



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ**



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»**

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Επιγενετική και Νευροεκφυλιστικά Νοσήματα»

Πάυλος Λαζαρίδης

Νοσηλευτής Πανεπιστημιακής Εκπαιδεύσεως

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Γιαπιτζάκης Χρήστος Επίκουρος Καθηγητής Νευρογενετικής (Επιβλέπων)

Τσέζου Καθηγήτρια Ιατρικής γενετικής (Μέλος)

Δήμας Κωνσταντίνος Επίκουρος καθηγητής (Μέλος)

ΛΑΡΙΣΑ, ΕΤΟΣ

2017



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ



ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΚΥΤΤΑΡΟΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ»

«Epigenetics and neurodegenerative diseases»

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Νευροεκφυλισμός είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει νοσήματα του νευρικού συστήματος, στα οποία παρουσιάζεται προοδευτική απώλεια δομής ή λειτουργίας των νευρικών κυττάρων. Τα νευροεκφυλιστικά νοσήματα αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη ομάδα νοσημάτων με ετερογένεια στις κλινικές και παθολογικές εκδηλώσεις τους, κάποιες από τις οποίες αποβαίνουν μοιραίες για τη ζωή του ανθρώπου. Τα τελευταία χρόνια ο ρυθμός εμφάνισής τους έχει αυξηθεί, ιδιαίτερα στις ανεπτυγμένες χώρες καθώς έχει ανεβεί ο μέσος όρος ηλικίας και τα νοσήματα αυτά εμφανίζονται κατά κύριο λόγο σε ηλικιωμένα άτομα. Νέες τεχνικές έχουν βελτιώσει την ευαισθησία και την ειδικότητα των νευροπαθολογικών διαγνωστικών κριτηρίων και κατά συνέπεια την ακρίβεια της κατάταξης των νευροεκφυλιστικών διαταραχών παρόλα αυτά η κατάταξη των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων είναι ιδιαίτερα δύσκολο έργο καθώς υπάρχει σημαντική αλληλεπικάλυψη μεταξύ των κλινικοπαθολογικών εκδηλώσεων των ασθενειών αυτών. Η πιο δημοφιλής, πάντως, είναι αυτή που βασίζεται στην κατάταξή τους με βάση την κυρίαρχη κλινική εικόνα ή την ανατομική περιοχή που προσβάλλεται περισσότερο ή είναι συνδυασμός και των δύο. Τα αίτια των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων δεν είναι ξεκάθαρα και γίνεται λόγος για το ρόλο γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων, μιας και πολλά νοσήματα έχουν οικογενή χαρακτήρα. Έτσι, πολλές ασθένειες κληρονομούνται είτε ως φυλοσύνδετες, επικρατητικές ή υπολειπόμενες, άλλες είναι σποραδικές και άλλες κληρονομούνται σε μια μικρή ομάδα ασθενών. Οι ασθενείς που υποφέρουν από κάποιο νευροεκφυλιστικό νόσημα γνωρίζουν πότε περίπου ξεκίνησαν τα συμπτώματά τους, τα οποία δεν αντιστοιχούν και με το χρόνο έναρξης της ασθένειας. Στην παρούσα εργασία μελετάμε επίσης τους κύριους μηχανισμούς, στην επιγενετική ρύθμιση στην μεθυλίωση του DNA, στην χρωματίνη και στα μη κωδικοποιητικά RNAs. Επίσης ελέγχουμε εάν οι δυσμενείς περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν όχι μόνο τα άτομα που εκτίθενται άμεσα σε αυτούς τους παράγοντες αλλά και τους απογόνους τους. Επειδή το επιγονιδίωμα είναι ευαίσθητο στην περιβαλλοντική επιρροή και σε ορισμένες περιπτώσεις, μπορεί να μεταδοθεί εν μέρει από γενιά σε γενιά, παρέχει έναν πιθανό διαγενεαϊκό μηχανισμό για τη μετάδοση των επιπτώσεων των περιβαλλοντικών παραγόντων. Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες που εξετάζουμε περιλαμβάνουν την έκθεση σε τοξικές ουσίες, τη διατροφή και τη μεταγεννητική φροντίδα. Από όπου προκύπτει πως τα χημικά τοξικά έχουν αρνητικές επιπτώσεις όχι μόνο στα άτομα που εκτίθενται άμεσα στην τοξική ουσία αλλά και στους απογόνους τους. Επίσης από ευρήματα στον άνθρωπο και στα τρωκτικά υποδηλώνονται ότι επιγενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες εμπλέκονται στη

μετάδοση του αποτελέσματος της ανεπαρκούς ή υπερβολικής δίαιτας καθώς και από μελέτη σε αρουραίους αποδείχθηκε ότι η κακοποίηση κατά την πρώιμη ανάπτυξη μπορεί όχι μόνο να προδιαθέσει άτομα με μεγάλες ψυχώσεις αλλά και για τους απόγονους τους μέσω μετάδοσης μη φυσιολογικών μοτίβων μεθυλίωσης στις επόμενες γενιές. Ενδιαφέρον παρουσιάζει, σε ένα πειραματικό σύστημα, που επιγενετικά σημάδια στο επίπεδο της δομής της χρωματίνης (ακετυλίωση ιστόνης) έχουν συνδεθεί με την ανάκτηση της μνήμης που φαινόταν να είναι «χαμένη» (δηλαδή δεν είναι διαθέσιμα για ανάμνηση). Ο εμπλουτισμός του περιβάλλοντος είναι γνωστό από καιρό ότι έχει θετικές επιπτώσεις στη χωρητικότητα μνήμης και πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι αυτές οι επιδράσεις οφείλονται τουλάχιστον εν μέρει στην πρόσληψη επιγενετικών μηχανισμών από τον εμπλουτισμό του περιβάλλοντος. Συνολικά, εκτός από την αναγνώριση της αναστολής HDAC ως πιθανού νέου θεραπευτικού στόχου σε νευροεκφυλιστικές διαταραχές, διάφορα ευρήματα συμπληρώνουν μια αναδυόμενη βιβλιογραφία που υποδηλώνει σημαντικό ρόλο για τους επιγενετικούς μοριακούς μηχανισμούς στη λειτουργία μνήμης. Μελέτες στην επιγενετική των ασθενειών του Huntington και του Alzheimer έδειξαν πως υπάρχουν σημαντικές επιγενετικές διαφορές μεταξύ ασθενών με νευροεκφυλιστικές ασθένειες και υγιή άτομα. Τέλος, η αποσύνδεση των οδών μεταγωγής σήματος από τη ρύθμιση των επιγενετικών μηχανισμών στον πυρήνα έχει ενοχοποιηθεί για τον τερματισμό των αναπτυξιακών κρίσιμων περιόδων. Γενικά, αυτά τα εκλεκτικά ευρήματα υποδεικνύουν μια νέα προοπτική για εξειδικευμένη δυναμική ρύθμιση των επιγενετικών μηχανισμών στο ενήλικο νευρικό σύστημα. Στην μετα-γονιδιωματική εποχή, οι επιγενετικοί πραγματικοί παράγοντες εκείνοι που είναι «πάνω» ή «παραπάνω» από τους γενετικούς και υπεύθυνοι για τον έλεγχο της έκφρασης και της λειτουργίας των γονιδίων έχουν συμβάλει σημαντικά στην ανάπτυξη και τη γήρανση, τις αλληλεπιδράσεις γονίδιο-γονίδιο και γονιδίου-περιβάλλοντος και την παθοφυσιολογία των σύνθετων καταστάσεων των ασθενειών. Επισημαίνουμε τα σχεδόν πανταχού παρόντα προφίλ της επιγενετικής δυσλειτουργίας που έχουν βρεθεί στις νευροεκφυλιστικές ασθένειες όπως του Αλτσχάιμερ και Χάντιγκτον. Συμπεραίνουμε ότι, μαζί με συμπληρωματικές γενετικές, γονιδιωματικές και σχετικές προσεγγίσεις, διερευνώντας επιγενετικά και επιγονιδιακά προφίλ στις νευροεκφυλιστικές παθήσεις παρουσιάζονται σημαντικές και αυξανόμενες πρακτικές στρατηγικές για την προώθηση της κατανόησης, της διάγνωσης και της θεραπείας αυτών των διαταραχών.

ABSTRACT

Neurodegeneration is a term used to describe diseases of the nervous system in which progressive loss of nerve cell structure or function occurs. Neurodegenerative diseases represent a large group of diseases with heterogeneity in their clinical and pathological manifestations, some of which are lethal to human life. In recent years, their share has increased, especially in developed countries, as the average age has increased and these diseases occur mainly in the elderly. The new techniques improved the sensitivity and specialization of neuropathological diagnostic criteria and hence the accuracy of the classification of neurodegenerative disorders. However, the classification of neurodegenerative diseases is a particularly difficult task as there is significant overlap between the clinicopathological manifestations of these diseases. The most popular, however, are based on their ranking based on the prevailing clinical picture or the anatomical area most affected or a combination of the two. The causes of neurodegenerative diseases are not clear and the role of genetic and environmental factors is being discussed, as many diseases are familial. Thus, many diseases are inherited as sex-related, dominant or residual, or as sporadic, or inherited in a small group of patients. Patients suffering from neurodegenerative disease know when their symptoms started, which does not correspond to the onset of the disease. In the present we are also being studied the main mechanisms, epigenetic regulation of DNA methylation, chromatin and non-coding RNAs. We also check whether the adverse environmental factors can affect not only the individuals directly exposed to these factors but also their offspring. Because the epigenome is sensitive to environmental influence and, in some cases, can, in part, be transmitted across generations, it provides a potential mechanism for the transgenerational transmission of the impact of environmental factors. Environmental factors examined include exposure to toxicants, diet, and postnatal care. It turns out that chemical toxicities have a negative impact not only on people exposed directly to the toxic substance but also on their offspring. Also by findings in humans and rodents it is suggested that epigenetic and environmental factors are involved in the transmission of the effect of inadequate or excessive dieting and from a study in rats it has been shown that early childhood abuse can not only predispose people with high psychoses but also their offspring by transmitting abnormal methylation motifs to future generations. Intriguingly, in one experimental system epigenetic marks at the level of chromatin structure (histone acetylation) have been linked to the recovery of memories that had seemed to be “lost” (i.e., not available for recollection). Environmental enrichment has long been known to have positive effects on

memory capacity, and recent studies have suggested that these effects are at least partly due to the recruitment of epigenetic mechanisms by environmental enrichment. Overall, in addition to recognizing HDAC inhibition as a possible new therapeutic target in neurodegenerative disorders, several findings complement an emerging literature that suggests an important role for epigenetic molecular mechanisms in memory function. Studies in the epigenetics of Huntington's and Alzheimer's diseases have shown that there are significant epigenetic differences between patients with neurodegenerative diseases and healthy individuals. Finally, an uncoupling of signal transduction pathways from the regulation of epigenetic mechanisms in the nucleus has been implicated in the closure of developmental critical periods. Generally, these eclectic findings suggest a new perspective on experience-dependent dynamic regulation of epigenetic mechanisms in the adult nervous system. In the post-genomic era, epigenetic factors literally are those that are “over” or “above” genetic ones and responsible for controlling the expression and function of genes have emerged as important mediators of development and aging; gene-gene and gene-environmental interactions; and the pathophysiology of complex disease states. We highlight the nearly ubiquitous profiles of epigenetic dysfunction found in neurodegenerative diseases such as Alzheimer and Huntington. We conclude that, together with complementary genetic, genomic, and related approaches, interrogating epigenetic and epigenomic profiles in neurodegenerative diseases represent important and increasingly practical strategies for advancing our understanding of the diagnosis and treatment of these disorders.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	2
ABSTRACT.....	4
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	6
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.

ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΜΟΣ.....	8
----------------------	---

1.1	Περιγραφή
νευροεκφυλισμού.....	8
1.2	Κατάταξη
νευροεκφυλιστικών	νοσημάτων
.....	10
1.3	Αίτια
νευροεκφυλισμού.....	11
1.4	Έναρξη
και	πορεία
νόσου.....	12
1.5	Νευροεκφυλισμός
γήρανση.....	13
1.6	Μηχανισμοί
νευροεκφυλισμού.....	14
1.7	Γενετική
επιδημιολογία	των
νευροεκφυλιστικών	διαταραχών.....
	15

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2.

ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ.....	18
------------------	----

2.1	Είδη
επιγενετικών	μηχανισμών
.....	18

2.2	Επιγενετική	επίδραση	περιβάλλοντος25
2.2.1	Επιγενετική	κληρονομιά	και	διατροφή.....27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3				
3.ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ				ΚΑΙ
ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΜΟΣ.....31				
3.1	Επιγενετική	και	Κεντρικό	Νευρικό
Σύστημα.....31				
3.2	Επιγενετική	και	νευροεκφυλιστικά	νοσήματα
.....40				
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....64				
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....68				

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σε όλες σχεδόν τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες έχει παρατηρηθεί επιγενετική δυσλειτουργία. Με τις συμπληρωματικές γενετικές, γονιδιωματικές και σχετικές προσεγγίσεις, διερευνώντας επιγενετικά και επιγονιδιακά προφίλ στις νευροεκφυλιστικές παθήσεις εμφανίζονται σημαντικές και αυξανόμενες πρακτικές στρατηγικές για την προώθηση της κατανόησης, της διάγνωσης και της θεραπείας νευροεκφυλιστικών διαταραχών. Η επιγενετική διαχειρίζεται με κατάλληλους μηχανισμούς και συνεργασίες τις γονιδιακές εκφράσεις χωρίς μεταβολή της αλληλουχίας του DNA. Ανάλογα με τα πλαίσια λειτουργίας του κάθε κυττάρου και τις εκάστοτε ανάγκες επιλέγονται ποια γονίδια θα είναι ενεργά και ποια σε μόνιμη ή περιοδική αναστολή. Κύριοι επιγενετικοί μηχανισμοί αφορούν τη μεθυλίωση του DNA, τις διασυνδέσεις των δομικών μονάδων των ιστονών και αναδιαμόρφωση της χρωματίνης. Με παλίνδρομη συνεργασία αλλά και αυτοτελώς συμμετέχουν τα μικρά mRNA και μεγαλομοριακά RNA (long non-coding RNAs, lncRNA) από τις μη κωδικοποιούσες (non-coding, nc) περιοχές του DNA. Ιδιαίτερη σημαντική και

συχνά απαραίτητη είναι η συνεργασία με πολυπαραγοντικούς και πρωτεϊνικούς συνδυασμούς. Σε κάθε κυτταρική διαίρεση διατηρείται η ταυτότητα και ο διαμορφούμενος χαρακτηριστικός για κάθε κύτταρο λειτουργικός φαινότυπος, το επιγένομα που συγκεντρώνει όλες τις γενετικές εξατομικεύσεις αλλά και επιγενετικές προσαρμογές κατά τη διάρκεια της ζωής. Επιγενετικές δυσλειτουργίες και μονιμοποίηση αποκλίσεων από αναπροσαρμογές που συνοδεύουν ακραίες συνθήκες ζωής δυνητικά κληρονομούνται και σε συνδυασμό με γενετικούς προδιαθεσικούς παράγοντες ενοχοποιούνται για την ανάπτυξη μεγάλου αριθμού παθογενειών. Πειραματικά και κλινικά δεδομένα αλλά και νεκροτομικά ευρήματα διασυνδέουν την επιγενετική συμμετοχή με νευροεκφυλιστικά νοσήματα, νοσήματα μεταβολισμού, νευροψυχιατρικές νόσους αλλά και για πολλές λειτουργικές αποκλίσεις από το φυσιολογικό. Η ανταγωνιστική αντιμετώπιση των υπεύθυνων επιγενετικών αποκλίσεων για θεραπευτικές εφαρμογές αποτελεί διεθνή ερευνητικό στόχο. (Δελτ Α' Παιδιατρ Κλιν Πανεπ Αθηνών 2011, 58(1):21-28). Νευροεκφυλισμός είναι ένας όρος που χρησιμοποιείται για να περιγράψει νοσήματα του νευρικού συστήματος, στα οποία παρουσιάζεται προοδευτική απώλεια δομής ή λειτουργίας των νευρικών κυττάρων. Τα νευροεκφυλιστικά νοσήματα αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη ομάδα νοσημάτων με ετερογένεια στις κλινικές και παθολογικές εκδηλώσεις τους, κάποιες από τις οποίες αποβαίνουν μοιραίες για τη ζωή του ανθρώπου. Στα νευροεκφυλιστικά νοσήματα κατατάσσονται νοσήματα όπως η νόσος Alzheimer, Parkinson, μυοτονική ατροφία και άλλα. Στην κατηγορία αυτή, κατατάσσονται νόσοι άγνωστης αιτίας και αβέβαιης παθογένειας, συχνά με κληρονομικό χαρακτήρα, που χαρακτηρίζονται από χρόνια καταστροφή του νευρικού ιστού. Έχουν αργή έναρξη, προοδευτική εξέλιξη και επηρεάζουν διάφορες περιοχές του εγκεφάλου, άρα και περισσότερα από ένα συστήματα(κινητικό, αισθητικό, νευρικό, κτλ).Στις περιπτώσεις αυτές προσβάλλονται πολλές από τις δραστηριότητες του σώματός, όπως η ισορροπία, η κίνηση, η ομιλία, η αναπνοή και η καρδιακή λειτουργία. Χωρίς να είναι ξεκάθαρο, φαίνεται πως οι ασθένειες αυτές είναι κληρονομικές. Μέσα από έρευνες όμως, βρέθηκε πως κάποιες παθολογικές καταστάσεις όπως ο αλκοολισμός, ένας όγκος ή ένα εγκεφαλικό επεισόδιο ευνοεί την εμφάνιση αυτών των ασθενειών . Άλλες αιτίες μπορεί να περιλαμβάνουν προσβολή του οργανισμού από τοξίνες ή από χημικά προϊόντα. Μερικές φορές η αιτία δεν είναι γνωστή. Στην παρούσα εργασία θα μελετήσουμε τον νευροεκφυλισμό και τα νευροεκφυλιστικά νοσήματα, την επιγενετική και το πώς αλληλοσχετίζονται μεταξύ τους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1. ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΜΟΣ

1.1 Περιγραφή νευροεκφυλισμού

Ο νευροεκφυλισμός είναι ένας ευρέως χρησιμοποιούμενος όρος, του οποίου η έννοια πιστεύεται ότι είναι διεθνώς κατανοητή, χωρίς να υπάρχει ένας ακριβής ορισμός της. Συχνά, ο νευροεκφυλισμός χρησιμοποιείται ευκαιριακά και μόλις που αναφέρεται σε μεγάλα ιατρικά λεξικά και είναι, πολλές φορές, ατελώς ορισμένος στα περισσότερα εκτενή λεξικά. Ετοιμολογικά, η λέξη αποτελείται από το πρόθεμα «νεύρο-», το οποίο προσδιορίζει τα νευρικά κύτταρα (π.χ. νευρώνες) και τον «εκφυλισμό», ο οποίος αναφέρεται, στην περίπτωση των ιστών και οργάνων, σε μια διαδικασία απώλειας δομής ή λειτουργίας (108). Έτσι, με την αυστηρή έννοια του όρου, ο νευροεκφυλισμός αναφέρεται σε κάθε παθολογική κατάσταση που επηρεάζει πρωταρχικά τους νευρώνες. Στην πράξη, οι νευροεκφυλιστικές νόσοι αντιπροσωπεύουν μια μεγάλη ομάδα νευρολογικών διαταραχών με ετερογενείς κλινικές και παθολογικές εκδηλώσεις που επηρεάζουν συγκεκριμένες υποομάδες νευρώνων σε εξειδικευμένα ανατομικά λειτουργικά συστήματα. Ξεκινούν για άγνωστους λόγους και εξελίσσονται αρκετά σοβαρά. Νοσήματα του νευρικού συστήματος τα οποία εμπλέκουν όχι καθαρούς τους νευρώνες, αλλά τις ιδιότητές τους, όπως το έλκτρο μυελίνης στην πολλαπλή σκλήρυνση, δεν είναι νευροεκφυλιστικές διαταραχές ούτε είναι παθολογικές καταστάσεις στις οποίες οι νευρώνες πεθαίνουν ως αποτέλεσμα μιας γνωστής αιτίας όπως η υποξία, ο δηλητηριασμός, μεταβολικές επιδράσεις ή μολύνσεις (140).

Ανάμεσα στις εκατοντάδες των διαφορετικών νευροεκφυλιστικών διαταραχών, μέχρι τώρα τη μερίδα του λέοντος στην προσοχή έχουν λίγες ανάμεσα στις οποίες είναι η νόσος Alzheimer(AD), η νόσος του Parkinson (PD), η νόσος του Huntington (HD) και η αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση (ALS). Πολλές από τις λιγότερο γνωστές νευροεκφυλιστικές διαταραχές, όχι λιγότερο θανατηφόρες, είναι ουσιαστικά αγνοημένες.

Ο πιο σταθερός παράγοντας κινδύνου ανάπτυξης νευροεκφυλιστικής διαταραχής είναι η ηλικία, ειδικά για τη νόσο του Parkinson και τη νόσο Alzheimer. Κατά τον προηγούμενο αιώνα, ο ρυθμός αύξησης του πληθυσμού ηλικίας 65 ετών και πάνω στις βιομηχανικές χώρες ήταν πολύ πιο πάνω από αυτόν του συνολικού πληθυσμού. Έτσι, προσδοκούμε ότι, στις επόμενες γενιές, η αναλογία των ηλικιωμένων πολιτών θα διπλασιαστεί και έτσι πιθανό και η αναλογία των ατόμων που υποφέρουν από νευροεκφυλιστικό νόσημα. Αυτή η πρόβλεψη

αποτελεί επίκεντρο αυξημένου ενδιαφέροντος στην ιατρική κοινότητα και στους νομοθέτες και κάποιος μπορεί εύκολα να προβλέψει τον αυξανόμενο μέγεθος του συναισθηματικού, σωματικού και οικονομικού κόστους στους ασθενείς, τους ανθρώπους στο χώρο υγείας και την κοινωνία που σχετίζεται με τέτοιες δύσκολες ασθένειες. Αυτό που περιπλέκει το πρόβλημα είναι το γεγονός ότι ενώ, μέχρι σήμερα, αρκετά ενδεδειγμένα φάρμακα, σε εκτεταμένες περιπτώσεις, ανακουφίζουν τα συμπτώματα σε αρκετές νευροεκφυλιστικές ασθένειες, η χρόνια χρήση τους σχετίζεται με την πρόκληση ανεπιθύμητων ενεργειών και τίποτα δε φαίνεται να σταματάει την εξέλιξη του εκφυλισμού. Επιπλέον, η ανάπτυξη αποτελεσματικής πρόληψης ή προστατευτικών θεραπειών εμποδίστηκαν από την περιορισμένη γνώση των αιτιών και των μηχανισμών με τους οποίους οι νευρώνες πεθαίνουν στα νευροεκφυλιστικά νοσήματα. Παρά τη δυσοίωση αυτή όψη, μερικές νευρολογικές ανακαλύψεις έφεραν πιο κοντά από ποτέ τη μέρα όπου τα μυστικά αρκετών νευροεκφυλιστικών διαταραχών θα φανερωθούν και θα γίνουν διαθέσιμες αποτελεσματικές θεραπευτικές στρατηγικές. Με αυτές τις προοπτικές, επιλεγμένες γενετικές και μοριακές εξελίξεις σχετικά με τη βιολογία του νευροεκφυλισμού, π.χ. απόπτωση, οξειδωτικό stress, μιτοχονδριακή δυσλειτουργία, θα αναθεωρηθούν(108)(140).

1.2 Κατάταξη νευροεκφυλιστικών νοσημάτων

Ο αριθμός των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων υπολογίζεται σε μερικές εκατοντάδες περίπου και ανάμεσά τους φαίνεται να υπάρχει αλληλοεπικάλυψη κλινικά και παθολογικά, κάνοντας την κατάταξή τους πιο ενδιαφέρουσα. Σε μερικές περιπτώσεις γίνεται πιο περίπλοκο από το γεγονός ότι, σε ασθένειες όπως η πολυσυστηματική ατροφία, στην οποία επηρεάζονται αρκετές περιοχές του εγκεφάλου, διαφορετικοί συνδυασμοί περιοχών μπορεί να δώσουν διαφορετική κλινική εικόνα. Επιπλέον, η ίδια νευροεκφυλιστική διαδικασία, ειδικά στην αρχή, μπορεί να επηρεάσει διαφορετικές περιοχές στον εγκέφαλο, κάνοντας μια δεδομένη ασθένεια να φαίνεται πολύ διαφορετική από άποψη συμπτωματολογίας. Παρόλες αυτές τις δυσκολίες, η πιο δημοφιλής κατάταξη των νευροεκφυλιστικών διαταραχών βασίζεται στην κυρίαρχη κλινική εικόνα ή στην τοπογραφία της κυρίαρχης περιοχής ή συχνά σε συνδυασμό και των δύο. (Καναβάκης Ε., Ξαϊδάρα Α.). (Πίνακας 1)

Τις τελευταίες δεκαετίες σημαντικές πρόοδοι στις τεχνολογίες μελέτης των νευρολογικών διαταραχών, όπως η ανοσοϊστοχημεία, έχουν αντικαταστήσει ή συμπληρώσει πολλές από τις ιστολογικές προσεγγίσεις. Αδιαμφισβήτητα, οι νέες αυτές τεχνικές έχουν βελτιώσει την

ευαισθησία και την ειδικότητα των νευροπαθολογικών διαγνωστικών κριτηρίων και κατά συνέπεια την ακρίβεια της κατάταξης των νευροεκφυλιστικών διαταραχών. Παρόλα αυτά, παρά το γεγονός ότι οι νέες αυτές μέθοδοι μπορούν τώρα να προσδιορίσουν την παρουσία του βαθμού γλοίωσης σε συγκεκριμένες εγκεφαλικές περιοχές καμία από τις μέχρι τώρα βελτιωμένες κατατάξεις δεν είναι αρκετά ικανοποιητική. Από την άλλη μεριά, η ύπαρξη τεχνικών προηγμένης τεχνολογίας, όπως οι γονιδιακές συστοιχίες, η PCR, η Westernblot και η μικροανατομή με laser θα μπορέσουν να δώσουν στο κοντινό μέλλον νέα δεδομένα για την κατάταξη των νευροεκφυλιστικών ασθενειών.

Πίνακας 1. Ασθένειες με Ταύ παθολογία

Νόσος Alzheimer
Αργυροφιλική κοκκώδης άνοια
Φλοιοβασική εκφύλιση
Μετωποκροταφική άνοια με παρκινσονισμό συνδεδεμένη με το χρωμόσωμα 17
(Νόσος Pick)
Νόσος Hallervorden- Spatz
Μυοτονική δυστροφία
Νόσος Niemann-Pick, τύπος C
Μετεγκεφαλικός παρκινσονισμός
Νόσοι Prion (μερικές)

Προοδευτική υποφλοιϊκή γλοιώση
Προοδευτική υπερπυρηνική παράλυση
Υποξία σκληρυντική πανενγκεφαλίτιδα

1.3 Αίτια νευροεκφυλισμού

Με ελάχιστες εξαιρέσεις, οι αιτίες των νευροεκφυλιστικών νοσημάτων είναι σχεδόν άγνωστες και ακόμη και όταν αναγνωρίζονται, οι μηχανισμοί έναρξης της ασθένειας παραμένουν θεωρητικοί.

Μια από τις κυριότερες συζητήσεις σχετικά με την αιτιολογία των νευροεκφυλιστικών διαταραχών, αφορά το ρόλο γενετικών, περιβαλλοντικών και πολυπαραγοντικών παραγόντων στην έναρξη αυτών των ασθενειών. Μερικές νευροεκφυλιστικές ασθένειες εμφανίζουν καθαρά οικογενή χαρακτήρα, οπότε πρόκειται για ασθένειες με γενετική βάση.

Ανάμεσα σε αυτές τις οικογένειες η ασθένεια εμφανίζεται ως κληρονομική, αυτοσωμική επικρατούσα ή υπολειπόμενη, ή ακόμη X- φυλοσύνδετη ή κληρονομική από τη μητέρα. Επιπρόσθετα, σε αυτές τις γενετικά καθοριζόμενες ασθένειες άλλες είναι σποραδικές και άλλες κληρονομούνται(140,75). Στην κατηγορία των ασθενών όπου η ασθένεια εμφανίζεται σποραδικά, που φαίνεται να ανήκει και η μεγαλύτερη πλειοψηφία των ασθενών, η όποια γενετική συνεισφορά στη νευροεκφυλιστική διαδικασία δείχνει να είναι ελάχιστη, η νόσος είναι πολυπαραγοντική όπως για παράδειγμα έχει παρατηρηθεί στη νόσου Parkinson και του Alzheimer. Αντιθέτως, τοξικοί περιβαλλοντικοί παράγοντες είναι κυρίως ύποπτοι στην αρχική εκφυλιστική διαδικασία. Πολλά περιστατικά νευροεκφυλιστικών διαδικασιών που σχετίζονται με τοξικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες (υπερβολική έκθεση σε φυτοφάρμακα, δηλητηρίαση από βαρέα μέταλλα) εμφανίζονται σε ένα συγκεκριμένο γεωγραφικό, κοινωνικό ή επαγγελματικό περιβάλλον.

1.4 Έναρξη και πορεία της νόσου

Ο μεγαλύτερος παράγοντας κινδύνου για τις νευροεκφυλιστικές ασθένειες είναι η γήρανση. Οι μεταλλάξεις του μιτοχονδριακού DNA καθώς και το οξειδωτικό στρες συμβάλλουν στη γήρανση και επομένως στην εμφάνιση νευροεκφυλιστικών ασθενειών. Οι περισσότεροι

ασθενείς που υποφέρουν από κάποια νευροεκφυλιστική ασθένεια γνωρίζουν πότε περίπου ξεκίνησαν τα συμπτώματά τους. Επειδή, σχεδόν πάντα υπάρχει μια σημαντική κυτταρική περίσσεια στις νευρικές οδούς, η έναρξη των συμπτωμάτων δεν ισοδυναμεί με την έναρξη της ασθένειας. Αντιθέτως, η έναρξη των συμπτωμάτων αντιστοιχεί σε ένα νευροεκφυλιστικό στάδιο στο οποίο ο αριθμός των εναπομεινάντων νευρώνων σε μια δεδομένη νευρική οδό πέφτουν κάτω από τον αριθμό που απαιτείται ώστε να επιτευχθεί η κανονική λειτουργία των προσβληθέντων νευρώνων. Αυτό σημαίνει ότι η έναρξη της ασθένειας συμβαίνει σε νωρίτερο χρόνο, ο οποίος μπορεί να ποικίλει από μερικούς μήνες έως αρκετά χρόνια, ανάλογα με το πόσο γρήγορα εξελίσσεται η νευροεκφυλιστική διαδικασία. Στις περισσότερες περιπτώσεις, η έλλειψη προσυμπτωματικών ενδείξεων και γνώσης σχετικά με την πραγματική κινητική της κυτταρικής καταστροφής αποκλείει τη δυνατότητα για τον προσδιορισμό της έναρξης της ασθένειας (140) .

Όλες οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές εξελίσσονται αργά με το χρόνο και συχνά κάνουν αρκετά χρόνια για να φτάσουν στο τελικό στάδιο. Αυτό σημαίνει ότι οι άρρωστοι νευρώνες υποκύπτουν στην ασθένεια μετά από μια παρατεταμένη περίοδο αγωνίας; Πρέπει να θυμάται κανείς ότι η νευρωνική εκφύλιση αντιστοιχεί σε ένα ασύγχρονο θάνατο, στον οποίο κύτταρα ενός πληθυσμού «πεθαίνουν» σε διαφορετικούς χρόνους. Σαν φυσική συνέπεια, σε οποιαδήποτε δεδομένη στιγμή, μόνο ένας μικρός αριθμός κυττάρων «πεθαίνουν» στην πραγματικότητα. Ανάμεσα σε αυτά, πολλά κύτταρα, αν όχι όλα, είναι σε διαφορετικά στάδια θανάτου της κυτταρικής οδού. Παρόλα αυτά, κλινικές, ακτινολογικές και βιοχημικές μετρήσεις δίνουν πληροφορίες για το συνολικό πληθυσμό κυττάρων. Έτσι, ο ρυθμός αλλαγής σε κάποια από τις συνήθεις κλινικές παραμέτρους αντανακλά στη φθορά του συνολικού πληθυσμού των προσβληθέντων κυττάρων και ρίχνει πολύ λίγο φως στο ρυθμό με τον οποίο συμβαίνει ο θάνατος ενός κυττάρου (75).

1.5 Νευροεκφυλισμός και γήρανση

Πολλοί ηλικιωμένοι παρουσιάζουν ήπιες κινήσεις και γνωστικές διαφοροποιήσεις που θυμίζουν αυτές του νευροεκφυλισμού. Η παρατήρηση αυτή οδήγησε στην ιδέα ότι η γήρανση μπορεί να είναι μια «καλοήθης» μορφή του νευροεκφυλισμού, η οποία στηρίχτηκε από την αντίληψη ότι η φυσιολογική γήρανση, όπως και ο νευροεκφυλισμός, σχετίζεται αναπόφευκτα με το νευρωνικό θάνατο (140).

Εάν δεν υπάρχει σημαντική απώλεια νευρώνων, κάποια άλλη παθολογική εικόνα νευροεκφυλισμού, όπως η παρουσία σωματίων Lewy, τυπικά της νόσου Parkinson, ή νευροϊνωματώδεις μάζες και γεροντικές πλάκες, τυπικές της νόσου Alzheimer, μπορεί να βρεθούν στον εγκέφαλο ασυμπτωματικών υπερηλίκων. Η κρίσιμη ερώτηση που προκύπτει έτσι είναι η εξής: αυτές οι αλλαγές συμβαίνουν φυσιολογικά κατά τη διάρκεια της γήρανσης ή είναι ένα προσυμπτωματικό στάδιο αυτών των ασθενειών; Επειδή είναι αδύνατο να γίνουν εκτεταμένες νευροπαθολογικές μελέτες, είναι αδύνατο να προσδιοριστεί εάν αυτά τα άτομα θα είχαν αναπτύξει πλήρη έκφραση της ασθένειας εάν ζούσαν περισσότερο. Πράγματι, δεν υπάρχουν οριστικές ενδείξεις που να υποστηρίζουν αυτή την εξέλιξη. Αντιθέτως, νευρολογικές και λειτουργικές εγκεφαλο-απεικονιστικές μελέτες αποκάλυψαν ριζικές ποσοτικές και ποιοτικές διαφορές ανάμεσα σε ηλικιωμένα ανοϊκά και μη ανοϊκά άτομα, δείχνοντας ότι ο νευροεκφυλισμός και η γήρανση είναι δύο διαφορετικές οντότητες.

Τι είναι εκείνο που καθορίζει αν ένα άτομο πάθει νόσο Alzheimer σε μεγάλη ηλικία; Το ερώτημα αυτό αφορά στο μεγαλύτερο ποσοστό του πληθυσμού. Σήμερα είναι γνωστό ότι υπάρχουν τα λεγόμενα προδιαθεσικά γονίδια, γονίδια δηλαδή που δεν προκαλούν υποχρεωτικά τη νόσο σε όποιον τα φέρει, όμως τροποποιούν τον κίνδυνο για την εμφάνισή της ή συντελούν ώστε η νόσος να εκδηλωθεί σε μια νεότερη ηλικία. Τα πιο καλά μελετημένα είναι τα αλληλία μιας πρωτεΐνης, της απολιποπρωτεΐνης E, η οποία σχετίζεται με το μεταβολισμό των λιπιδίων και της χοληστερόλης, στο χρωμόσωμα 19. Αυτή η πρωτεΐνη εμφανίζεται με τρία αλληλία: το ε3, το ε4 και το ε2. Το ε3 είναι το πιο συνηθισμένο, ενώ το ε4 βρίσκεται σε μεγαλύτερο ποσοστό σε ασθενείς με νόσο του Alzheimer. Το ε2 θεωρείται ότι παίζει ένα προστατευτικό κατά κάποιο τρόπο ρόλο. Πολλά άλλα γονίδια διερευνώνται επίσης, αλλά επί του παρόντος δεν είναι διαθέσιμα σαν μια γνώση για το ευρύ κοινό (51).

Παρόλα αυτά, είναι ακόμη δύσκολο να γνωρίζει κανείς ακριβώς το γιατί εκτεταμένοι νευρώνες χάνονται ή καταστρέφονται σε ηλικιωμένους ανθρώπους σαν αποτέλεσμα αποκλειστικά της παρόδου του χρόνου. Φαίνεται πάντως καθαρά ότι η επιρροή από το πέρασμα του χρόνου στον αριθμό των νευρώνων είναι λιγότερο σημαντική από ό,τι πίστευαν παλαιότερα.

1.6 Μηχανισμοί νευροεκφυλισμού

Οι φυσιολογικές και κυτταρικές αλλαγές που συνοδεύουν τη γήρανση μπορεί να έχουν αποτελέσματα σε πολλές νευροεκφυλιστικές διαταραχές, συχνά επιταχύνοντας την πρόοδό

τους και επιδεινώνοντας τα συμπτώματά τους. Παρακάτω αναφέρονται ορισμένοι τρόποι μέσω των οποίων η γήρανση τροφοδοτεί και διαμορφώνει την ανάπτυξη των σχετιζόμενων με την ηλικία νευροεκφυλιστικών παθολογιών (94) (Εικόνα 1):

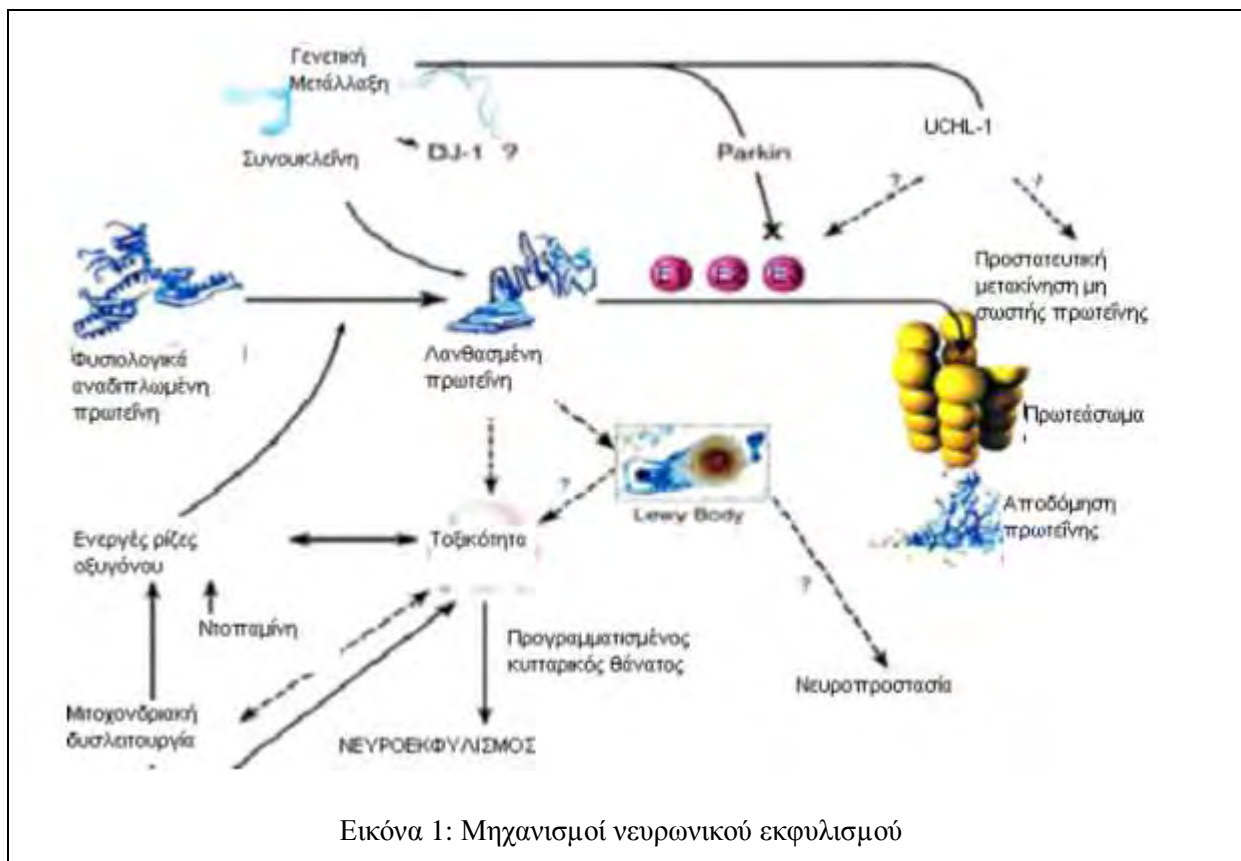
α. Συσσωμάτωση πρωτεϊνών

β. Πρωτεϊνική υποβάθμιση

γ. Ομοιόσταση ασβεστίου

δ. Οξειδωτική πίεση (stress)

ε. Μιτοχονδριακή λειτουργία



1.7 Γενετική επιδημιολογία των νευροεκφυλιστικών διαταραχών

Οι γονιδιακές ανωμαλίες παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση των εκφυλιστικών νοσημάτων του νευρικού συστήματος. Στην πραγματικότητα, είναι μια γνώση που αποκτήθηκε από γενετικές μελέτες και επέτρεψε τη διευκρίνιση των μοριακών μηχανισμών

υπογραμμίζοντας την αιτιολογία και παθογένεση πολλών νευροεκφυλιστικών διαταραχών(86).

Οι πολυπλοκότητες των πιο συχνών ασθενειών:

Ο οικογενής χαρακτήρας έχει αναγνωριστεί ως εξέχων χαρακτηριστικό πολλών νευροεκφυλιστικών διαταραχών δεκαετίες πριν γίνει γνωστή η μοριακή γενετική ή οι βιοχημικές ιδιότητες. Ήταν συχνή η αναγνώριση ειδικών μεταλλάξεων διαχωριστικών των ασθενειών σε προηγουμένως άγνωστα γονίδια που κατεύθυναν την προσοχή σε συγκεκριμένες πρωτεΐνες και οδούς που τώρα θεωρούνται κρίσιμες στην παθογένεση αυτών των ασθενειών. Αυτά περιλαμβάνουν μεταλλάξεις στην πρόδρομη πρωτεΐνη του β-αμυλοειδούς (Αβ), που προκαλεί τη νόσο του Alzheimer, στην α-συνουκλεΐνη, προκαλώντας τη νόσο του Parkinson ή την Ταυ πρωτεΐνη, που προκαλεί την προσθιοβρεγματική άνοια με παρκινσονισμό (75).

Ένα άλλο χαρακτηριστικό που παρατηρήθηκε στις πιο κοινές νευροεκφυλιστικές διαταραχές είναι ο διαχωρισμός ανάμεσα σε οικογενείς (σπάνια) και φαινομενικά οικογενείς (συχνά) τύπους. Οι τελευταίοι συχνά περιγράφονται ως σποραδικοί ή ιδιοπαθείς, παρόλο που υπάρχει μια αυξανόμενη ομάδα ενδείξεων που δείχνει ότι μια μεγάλη μερίδα αυτών των περιπτώσεων επηρεάζονται σημαντικά από γενετικούς παράγοντες. Τα επικίνδυνα γονίδια είναι πολλά, περιλαμβάνοντας και τα περίπλοκα μοντέλα αλληλεπίδρασης μεταξύ τους αλλά και με μη γενετικές μεταβλητές και φανερώνουν όχι απλό ή μοναδικό τρόπο κληρονομικότητας.

Μια δημοφιλής αντίληψη σχετικά με τη γενετική δημιουργία των πολύπλοκων ασθενειών είναι η υπόθεση της κοινής ασθένειας/ κοινής ποικιλομορφίας. Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία οι συχνές διαταραχές "εξουσιάζονται" επίσης από συχνές ποικιλομορφίες του DNA, όπως οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί. Αυτοί οι πολυμορφισμοί αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης ασθένειας, αλλά είναι ανεπαρκείς από μόνοι τους να προκαλέσουν μια συγκεκριμένη διαταραχή. Στη νόσο Alzheimer, για παράδειγμα, σπάνιες κυρίαρχες αυτοσωμικές μεταλλάξεις σε 3 γονίδια (APP, PSEN1, PSEN2) έδειξαν να προκαλούν την ασθένεια ενώ μια συχνή, ατελώς διεισδυόμενη ποικιλομορφία αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο για τη νόσο Alzheimer (π.χ. ε4 στην APOE). Η έγκαιρη αναγνώριση αυτών των γονιδίων στη μελέτη της νόσου Alzheimer ήταν δυνατή χάρη στο συνδυασμό μερικών ευνοϊκών καταστάσεων, όπως η παρουσία πολλαπλών ανεξάρτητων μεταλλάξεων στην ίδια περιοχή και η διαθεσιμότητα εκτεταμένων πολυπαραγοντικών γενεαλογικών δέντρων για το

γονότυπο του DNA και την αλληλουχία ή μια μεγάλη ιδιότητα κομμάτι από όλη τη γενετική ποικιλότητα, που προκύπτει από τη σχετικά υψηλή συχνότητα αλληλίων και το μεγάλο μέγεθος της επίδρασης. Παρόλα αυτά, η αναγνώριση των γονιδίων ασθένειας που κάνουν μικρότερη τη συνολική συνεισφορά στο γενετικό φάσμα ή παραγόντων κινδύνου με μικρότερες παρενέργειες θα απαιτήσουν πολλά περισσότερα δείγματα και πιθανόν πιο ευαίσθητα και αποτελεσματικά εργαλεία ώστε να καθιερώσουν σταθερές ανιχνεύσιμες ανάμεσα στις μελέτες πληθυσμών (86)(Γεωργόπουλος Γ. Πάνος, Robert Wood Johnson).

Βλέποντας αυτές τις δυσκολίες, η γενετική ανάλυση έθεσε τα θεμέλια για την κατανόηση μιας ποικιλίας μηχανισμών ασθένειας που οδηγούν στο νευροεκφυλισμό και στα σχετικά συμπτώματα.

Άλλωστε, η λεπτομερής κατανόηση της γενετικής τους βάσης θα είναι σημαντική στην ανάπτυξη αποτελεσματικών στρατηγικών που στοχεύουν στην έγκαιρη πρόγνωση και πρόληψη/ θεραπεία αυτών των καταστροφικών ασθενειών.

Είναι γνωστό ότι οι γενετικοί και φαινοτυπικοί πολυμορφισμοί προσδιορίζουν την ιδιοπαθή τάση προς συγκεκριμένες διαταραχές και επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας (94). Οι νευροεκφυλιστικές διαταραχές δεν αποτελούν εξαίρεση. Συγκριτική ανάλυση των γενετικών πολυμορφισμών σε ασθενείς με νευροεκφυλιστικές διαταραχές και υγιή άτομα επιτρέπει περαιτέρω μελέτη των αιτιών και των μηχανισμών του νευροεκφυλισμού. Μορφολογικά, όλες οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες χαρακτηρίζονται από μη αναστρέψιμες προοδευτικές αλλαγές στις κυτταροσκελετικές πρωτεΐνες και το νευρωνικό θάνατο. Για παράδειγμα, μια απώλεια νευρώνων και συνάψεων στον εγκεφαλικό φλοιό σχετίζεται με ενδοκυτταρική συσσώρευση Α-αμυλοειδούς στη νόσο Alzheimer, την πιο συχνή αιτία γεροντικής άνοιας. Μια απώλεια νευρώνων στη μέλαινα ουσία και άλλες περιοχές του εγκεφάλου σχετίζονται με τη δημιουργία των λεγόμενων σωματίων Lewy στο κυτταρόπλασμα στη νόσο του Parkinson και στις περισσότερες περιπτώσεις παρκινσονισμού, οι οποίες είναι οι πιο συχνές εξωπυραμιδικές κινητικές διαταραχές (94)(161). Στην κληρονομική νόσο του Huntington, οι νευρώνες εκφυλίζονται εξαιτίας της παραγωγής μεταβλητών πρωτεϊνών, χαντινγκτίνης και ουμπικουϊτίνης. Τα έγκλειστα που περιέχουν ουμπικουϊτίνη παράγονται στους νευρώνες στην αμυοτροφική πλευρική σκλήρυνση. Ένα άλλο συχνό χαρακτηριστικό των νευροεκφυλιστικών διαταραχών ότι η συχνότητά τους αυξάνεται με την ηλικία.

Μέχρι πρόσφατα πιστευόταν ότι η συνεισφορά της γενετικής προδιάθεσης σε σχέση με όλους τους αιτιολογικούς παράγοντες στην ανάπτυξη του παρκινσονισμού δεν ήταν πάνω από 5%. Μη κληρονομικές νευροεκφυλιστικές διαταραχές μπορεί να σχετίζονται με συνδυασμένη δράση γονιδίων και περιβάλλοντος. Η συνδυασμένη αυτή δράση εξηγεί μια σημαντική διαφορά στη θνητότητα που παρατηρείται σε ασθενείς με νόσο του Parkinson και πολλαπλή σκλήρυνση σε ποικίλες γεωγραφικές περιοχές.

Οι γενετικές διαταραχές που προκαλούνται από ένα γονίδιο, καλούνται "Μενδελιανές". Υπάρχουν τρεις τύποι μεντέλιας κληρονομικότητας. Πρώτον, κυρίαρχες γενετικές ποικιλομορφίες ή αλληλία παράγουν χαρακτηριστικά ή αρρώστιες εάν ένα αντίγραφο του αλληλίου είναι επαρκές να προκαλέσει μια ασθένεια (π.χ. νόσος του Huntington). Δεύτερο, είναι υπολειπόμενες ποικιλομορφίες, οι οποίες παρατηρούνται μόνο εάν δύο αντίγραφα του αλληλίου ασθένειας κληρονομούνται, ένα από κάθε ασθενή (π.χ. αταξία Friedrich). Τρίτο, είναι γονίδια στο X- χρωμόσωμα που δημιουργούν X- φυλοσύνδετα χαρακτηριστικά που μπορεί να δρουν είτε ως επικρατή ή υπολειπόμενα. Το ξεχωριστό των X- φυλοσύνδετων χαρακτηριστικών είναι ότι μια υπολειπόμενη ποικιλομορφία θα εμφανιστεί να δρα επικρατώς στους άνδρες που έχουν μόνο ένα X χρωμόσωμα και έτσι μόνο ένα αλληλίο (π.χ. μυϊκή δυστροφία Duchenne). Αντιθέτως, τα πολύπλοκα χαρακτηριστικά κυριαρχούνται από μια αλληλεπίδραση πολλαπλών γενετικών παραγόντων με ή χωρίς περιβαλλοντικές επιδράσεις (106). Σε μια πολύπλοκη ασθένεια ένα μόνο γονίδιο δεν μπορεί να προκαλέσει την ασθένεια, αλλά κάνει το άτομο πιο ευαίσθητο. Έτσι, είναι γνωστά ως γονίδια ευαισθησίας. Οποιαδήποτε ποικιλομορφία στο DNA (αλλαγή μιας βάσης, διαγραφή, διπλασιασμός ή επέκταση) που συμβαίνει σε μια μονή θέση ονομάζεται αλληλίο. Μεταλλάξεις στα αλληλία τόσο σοβαρές ώστε να προκαλέσουν ασθένεια από μόνες τους ονομάζονται μεταλλάξεις. Ποικιλομορφίες που είναι ουδέτερες ή δεν προκαλούν από μόνες τους ασθένεια λέγονται πολυμορφισμοί. Γενικά, πολυμορφισμοί που προσδιορίζονται σαν γενετικές ποικιλίες εμφανίζονται σε περισσότερο από 1% του πληθυσμού, είναι υπό έρευνα. Οι πιο συχνοί πολυμορφισμοί που χρησιμοποιούνται αυτή την εποχή είναι οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs). Υπάρχουν περίπου κάθε 500-1000 ζεύγη βάσεων (41)(161).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

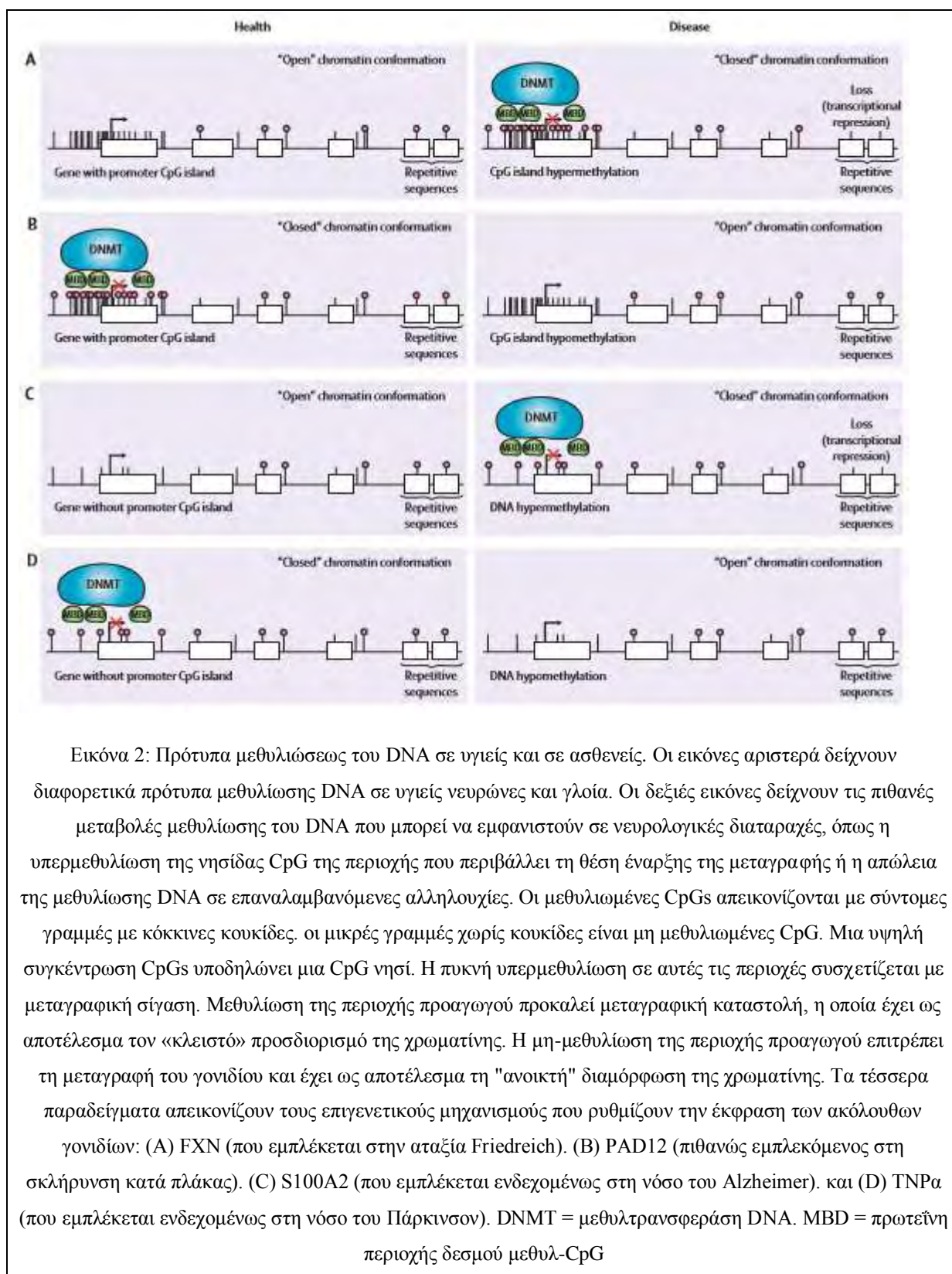
2. ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ.....

2.1 Είδη επιγενετικών μηχανισμών

Ο όρος "επιγενετική" χρησιμοποιήθηκε αρχικά για να αναφερθεί στις σύνθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ του γονιδιώματος και του περιβάλλοντος που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και τη διαφοροποίηση σε ανώτερους οργανισμούς. Σήμερα, αυτός ο όρος χρησιμοποιείται για να αναφέρεται σε κληρονομικές μεταβολές που δεν οφείλονται σε αλλαγές στην ακολουθία DNA. Αντίθετα, οι επιγενετικές τροποποιήσεις ή οι "ετικέτες", όπως η μεθυλίωση του DNA και η τροποποίηση της ιστόνης, μεταβάλλουν την προσβασιμότητα του DNA και τη δομή της χρωματίνης, ρυθμίζοντας έτσι τα πρότυπα της γονιδιακής έκφρασης. Αυτές οι διαδικασίες είναι κρίσιμες για την φυσιολογική ανάπτυξη και διαφοροποίηση των διακριτών κυτταρικών γραμμών στον ενήλικο οργανισμό. Μπορούν να τροποποιηθούν με εξωγενείς επιδράσεις και, ως τέτοιοι, μπορούν να συμβάλουν ή να είναι το αποτέλεσμα περιβαλλοντικών αλλαγών φαινοτύπου ή παθοφαινότυπου. Είναι σημαντικό ότι ο επιγενετικός προγραμματισμός έχει καθοριστικό ρόλο στη ρύθμιση των πολυδύναμων γονιδίων, τα οποία απενεργοποιούνται κατά τη διάρκεια της διαφοροποίησης. Παρακάτω αναφέρονται οι βασικοί μηχανισμοί στην επιγενετική ρύθμιση.

Μεθυλίωση του DNA

Η μεθυλίωση του DNA περιγράφει την ομοιοπολική τροποποίηση υπολειμμάτων κυτοσίνης σε περιοχές πλούσιες σε κυτοσίνη / γουανίνη (π.χ. νησιά CpG) που βρίσκονται σε ρυθμιστικά στοιχεία γονιδίων (π.χ. προαγωγείς) καθώς και σε άλλες θέσεις γονιδιώματος (π.χ. διαγονιδιακές περιοχές και επαναλαμβανόμενα στοιχεία) (102). Η κατάσταση μεθυλίωσης του DNA είναι υπεύθυνη για τη ρύθμιση της μεταγραφικής δραστηριότητας σε μεμονωμένους γονιδιακούς τόπους αλλά και σε πιο ευρύτερους γονιδιακούς τόπους (Εικόνα 2). Τα υψηλότερα επίπεδα μεθυλίωσης του DNA συσχετίζονται με μεταγραφική αναστολή, αν και έχει επίσης αναφερθεί ενεργοποίηση. Τα ένζυμα DNA μεθυλοτρανσφεράσης (DNMT) καταλύουν τη μεθυλίωση του DNA μεταφέροντας ομάδες μεθυλίου από τις κυτταροσινοσουλίνες S-αδενοσυλομεθειονίνης. Παράγοντες που εμπλέκονται στην απομεθυλίωση του DNA έχουν αναγνωριστεί πιο πρόσφατα (δηλαδή, επισκευή περικοπής DNA, κυτταρική δεαμινάση και πρωτεΐνες Gadd45) (173). Οι πρωτεΐνες πεδίου που συνδέονται με μεθυλο-CpG δεσμεύονται ειδικά στο μεθυλιωμένο DNA και προσλαμβάνουν επιπρόσθετους μεταγραφικούς και επιγενετικούς ρυθμιστές σε αυτές τις θέσεις.

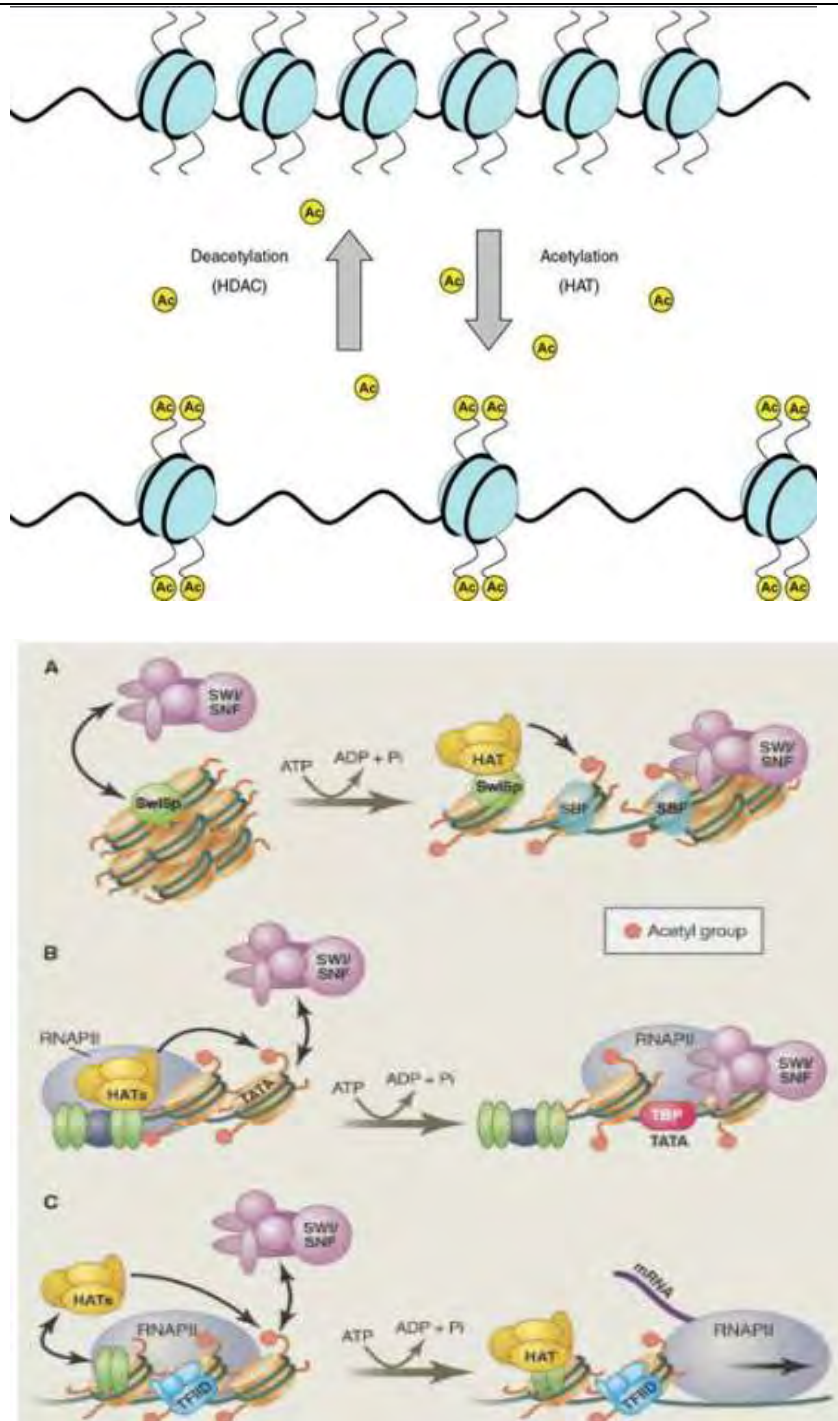


Διαμόρφωση της Χρωματίνης

Η χρωματίνη περιγράφει το πακέτο του γονιδιωματικού DNA, πρωτεϊνών ιστόνης και συναφών παραγόντων μέσα στον πυρήνα των κυττάρων (102). Η βασική μονάδα της χρωματίνης είναι το νουκλεοσωμικό DNA μήκους περίπου 147 bp που εμπεριέχει ένα οκταμερές πρωτεϊνών ιστόνης, που περιλαμβάνει δύο από τις κλασσικές πρωτεΐνες ιστόνης (δηλαδή H2A, H2B, H3, H4) και τις ιστόνες σύνδεσης (δηλαδή H1). Μία σειρά νουκλεοσωμάτων σχηματίζει δευτεροταγείς και τριτοταγείς δομές που αντιπροσωπεύουν διάφορους βαθμούς συμπύκνωσης περιλαμβάνοντας, για παράδειγμα, χαλαρό πακετάρισμα ευχρωματίνη και πιο πυκνό πακετάρισμα ετεροχρωματίνη. Οι μεταβολές στις διαμορφώσεις της χρωματίνης κατά μήκος αυτού του συνεχούς μπορούν, με τη σειρά τους, να διαμορφώσουν την προσβασιμότητα των ρυθμιστικών και λειτουργικών γονιδιωματικών περιοχών σε άλλους πυρηνικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων εκείνων που μεσολαβούν στην μεταγραφή και την αντιγραφή και επισκευή του DNA. Η χρωματοτίνη μπορεί να τροποποιηθεί δυναμικά και / ή να αναδιαταχθεί στο επίπεδο του νουκλεοσώματος με μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις των ιστονών, να αντικαταστήσει τις κανονικές ιστόνες από παραλλαγές ιστόνες και να επανατοποθετήσει νουκλεοσώματα και επίσης στο επίπεδο δομών υψηλότερης τάξης με αναδιαμόρφωση χρωματίνης και πυρηνική διαμερισματοποίηση (125).

Ειδικές τροποποιήσεις ιστονών καταλύονται κατά αναστρέψιμο τρόπο από ένζυμα με αντίθετες λειτουργίες, όπως οι ακετυλοτρανσφεράσες ιστονών (HATs) / αποακετυλάσες (HDAC) και οι μεθυλοτρανσφεράσες / απομεθυλάσες ιστόνης. Το φάσμα πιθανών τροποποιήσεων ιστόνης περιλαμβάνει ακετυλίωση και μεθυλίωση καθώς επίσης φωσφορυλίωση, σουμοϋλίωση, ADP-ριβοζυλίωση και άλλα (Εικόνα 3). Οι μεμονωμένες τροποποιήσεις ιστονών και οι συνδυασμοί τους μπορούν να συσχετιστούν με συγκεκριμένα γονιδιωματικά στοιχεία, όπως προαγωγείς, ενισχυτές και γονίδια, και με την ενορχήστρωση συγκεκριμένων λειτουργιών περιλαμβανομένης της μεταγραφικής ενεργοποίησης ή καταστολής και της αντιγραφής και επισκευής του DNA. Διάφοροι συνδυασμοί τροποποιήσεων ιστόνης πιστεύεται ότι σχηματίζουν "κώδικες" που οριοθετούν λειτουργικές γονιδιωματικές περιοχές (74). Οι μεταγραφικοί και επιγενετικοί παράγοντες με συγκεκριμένους τομείς πρωτεϊνών (π.χ. Tudor, PHD δάκτυλα, χρωμοδομές και βρωμομονάδες), περιλαμβανομένων εκείνων που εμπλέκονται στην αναδιαμόρφωση και

επανατοποθέτηση νουκλεοσωμάτων, καθώς και αναδιαμόρφωση χρωματίνης ανώτερης τάξης (π.χ. Polycomb Group [PcG] και Trithorax Ομάδα) ευθύνονται σε αυτές τις τροποποιήσεις ιστονών (133).



Εικόνα 3: Δύο κατηγορίες πρωτεϊνικών συμπλόκων αναδιαμορφώνουν τη χρωματίνη:

1.Ενζυμα που ακετυλιώνουν ή απακετυλιώνουν τις πυρηνικές ιστόνες. (Histone Acetyl Transferases: HATs).

2. ATP εξαρτώμενα σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης νουκλεοσωμάτων.

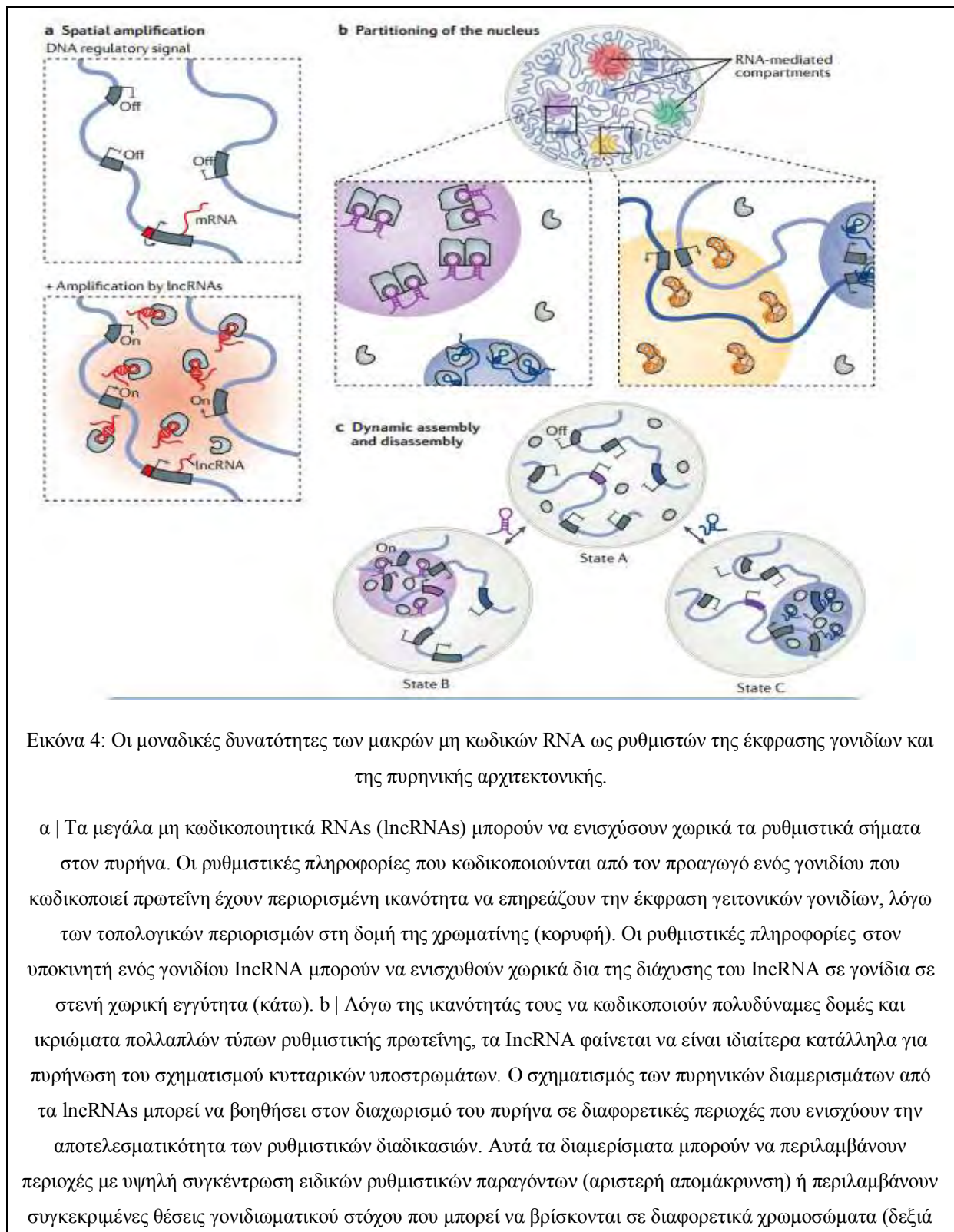
Η προσθήκη ακετυλομάδων εξουδετερώνει το θετικό φορτίο των λυσινών. Η συγγένεια με το DNA χάνεται προοδευτικά. (Επάνω σχήμα)

SWI + SNF: αποτελούν υπομονάδες του ίδιου συμπλόκου. Χρησιμοποιούν ATP για να επηρεάζουν την έκφραση πολλών γονιδίων μέσω της αναδιαμόρφωσης της χρωματίνης. (Κάτω σχήμα)

Μη κωδικοποιητικά RNAs

Η ρύθμιση των μη κωδικών RNA (non-coding RNAs, ncRNA) περιγράφει τις δράσεις μορίων RNA που προέρχονται από το γονιδίωμα αλλά δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνη (102). Στους ανθρώπους, το 98,5% των γονιδιωματικών αλληλουχιών είναι μη κωδικοποιητικές. Αυτές οι μη κωδικοποιητικές αλληλουχίες μεταγράφονται σε μεγάλο βαθμό, σχηματίζοντας διαφορετικές τάξεις των ncRNAs, οι οποίες είναι πιο άφθονες από τα αντίστοιχα τμήματα RNA που κωδικοποιούν την πρωτεΐνη [14 ••]. Τα μεταφορικά RNAs (transfer RNAs, tRNA) και τα ριβοσωμικά RNA (ribosomal RNAs, rRNA) είναι δύο πολύ γνωστές κατηγορίες ncRNAs. Πολλές επιπλέον κλάσεις των ncRNA έχουν επίσης αναγνωριστεί. Τα ncRNAs ταξινομούνται ως αυτά που είναι "μικρά" ή "μακρά" (> 200 νουκλεοτίδια). Οι κλάσεις των βραχέων ncRNAs περιλαμβάνουν τα μικροRNAs (miRNAs) - τα καλύτερα μελετημένα μεταξύ τους - καθώς επίσης και τα ενδογενή RNA με μικρή παρεμβολή, τα RNA αλληλεπίδρασης με PIWI, τα 3 'μη μεταφρασμένα RNAs και πολλές άλλες αναδυόμενες κατηγορίες (97). Οι τάξεις των μακρομοριακών ncRNA (lncRNAs) περιλαμβάνουν, αλλά δεν περιορίζονται σε αυτά, μακρά διαγονιδιακά ncRNAs και RNAs που ομοιάζουν με ενισχυτές καθώς και εκείνα που κωδικοποιούνται στο γονιδίωμα σε αντικωδικες, ιντρονικές και επικαλυπτόμενες διαμορφώσεις σε σχέση με γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνη (124). Αυτές οι διαφορετικές κατηγορίες ncRNA συνδέονται με διαφορετικές οδούς βιογένεσης και τελεστή και έχουν ένα ευρύ φάσμα λειτουργικών ρόλων που μπορεί να περιλαμβάνουν τη μεσολάβηση της μεθυλίωσης του DNA, την τροποποίηση των ιστονών και την αναδιαμόρφωση της χρωματίνης ανώτερης κατηγορίας, την μεταγραφή και την μετα-μεταγραφική επεξεργασία του RNA τη συναρμολόγηση, τη μεταφορά και τη μετάφραση (96). Για παράδειγμα, τα miRNAs είναι 21-24 νουκλεοτίδια ncRNA που προέρχονται από τη διαδοχική επεξεργασία των μακρύτερων μεταγραφών από τις ενδοροϊσινουκλεάσες Drosha και Dicer. Τα ώριμα miRNA δεσμεύονται σε συμπληρωματικές ρυθμιστικές αλληλουχίες σε RNA αγγελιαφόρου-στόχου (mRNAs) που εμποδίζουν τη μετάφραση αυτών των mRNAs ή την απομόνωσή τους για αποθήκευση ή αποικοδόμηση μέσω του συμπλόκου σίγασης που προκαλείται από RNA [82]. Αντίθετα, τα lncRNA είναι πιο εύελικτα μόρια που μπορούν να προσελκύουν μεταγραφικούς και επιγενετικούς ρυθμιστικούς παράγοντες (π.χ. παράγοντες

μεταγραφής, ένζυμα τροποποίησης ιστονών και σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης χρωματίνης) σε συγκεκριμένες θέσεις γονιδιώματος, σχηματίζουν πυρηνικούς υποτομείς που σχετίζονται με μετα-μεταγραφική επεξεργασία RNA, -κυτταροπλασματική μεταφορά πρωτεϊνών και έλεγχο της τοπικής μετάφρασης σε συναπτικά διαμερίσματα (124, 104). (Εικόνα 4)



απομάκρυνση). c | Η έκφραση των lncRNAs (μοβ και μπλε) μπορεί να επιτρέψει τη δυναμική συναρμολόγηση και αποσυναρμολόγηση των λειτουργικών πυρηνικών διαμερισμάτων. Αυτά τα διαμερίσματα μπορεί να περιέχουν τις ίδιες ρυθμιστικές πρωτεΐνες (γκρίζους κύκλους), αλλά συναρμολογούνται γύρω από διαφορετικές θέσεις γονιδιώματος λόγω της θέσης του τόπου lncRNA

2.2 Επιγενετική επίδραση περιβάλλοντος

Είναι κοινώς αποδεκτό ότι οι κληρονομικές πληροφορίες μεταδίδονται στους απογόνους μέσω αλληλουχιών DNA και ότι οποιαδήποτε αλλαγή της ακολουθίας DNA κατά τη μετάδοση είναι τυχαία και, εκτός από τα μεταλλαξιογόνα, δεν επηρεάζεται από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Ωστόσο, οι πρόσφατες εργασίες στον τομέα της επιγενετικής αναφέρουν πως αυτή η κληρονομιά των αλληλουχιών DNA δεν είναι ο μόνος μηχανισμός που υποκρύπτει τη διαγενεαμική μετάδοση φυσικών, συμπεριφορικών και συναισθηματικών χαρακτηριστικών σε θηλαστικά. Επιπλέον, είναι πλέον γνωστό ότι το επιγονόμετρο μπορεί να διαμορφωθεί από μια ποικιλία περιβαλλοντικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένων των χημικών ουσιών, της διατροφής και του πρώιμου περιβάλλοντος, καθώς και από τη γήρανση (4).

Ως εκ τούτου, το επιγενόμιο παρέχει μια σημαντική διασύνδεση μεταξύ των γονιδίων και του περιβάλλοντος και μπορεί να θεωρηθεί ως ένας πιθανός μηχανισμός για μια ταχεία διαγενεακή προσαρμογή στο περιβάλλον.

Ο Conrad Waddington εισήγαγε τον όρο "επιγενετική" στη δεκαετία του 1940 για να περιγράψει τις αλληλεπιδράσεις γονιδίου-περιβάλλοντος που τελικά οδηγούν σε ένα συγκεκριμένο φαινότυπο (166). Αρχικά χρησιμοποίησε αυτόν τον όρο σε αναπτυξιακό πλαίσιο για να απεικονίσει τις μόνιμες αλλαγές στη Γονιδιακή ενεργοποίηση και απενεργοποίηση που απαιτείται για κυτταρική διαφοροποίηση.

Ενώ οι μηχανισμοί για αυτές τις μεταβολές ήταν άγνωστοι τότε, θεωρούνται τώρα πιθανότατα το αποτέλεσμα διαφορετικής μεθυλίωσης του DNA και / ή μετα-μεταφραστικών χημικών τροποποιήσεων της χρωματίνης (69, 137). Η τρέχουσα χρήση του όρου μετατράπηκε έτσι ώστε να τονίσει τις μιτωτικές ή μειωτικά κληρονομικές αλλαγές στην γονιδιακή έκφραση που δεν οφείλονται σε οποιαδήποτε μεταβολή στην αλληλουχία νουκλεοτιδίων αλλά μάλλον σε τροποποιήσεις του ίδιου του μορίου DNA και της χρωματίνης. Αυτές οι τροποποιήσεις του DNA περιλαμβάνουν βιοχημικές μεταβολές συγκεκριμένων ζευγών βάσεων, συγκεκριμένα μεθυλίωση των CpGs (κυτοσίνες που

ακολουθούνται αμέσως από την αουανίνη), ή πρωτεϊνών ιστονίου πυρήνα ή παραλλαγών, καθώς και δομή βρόχου ή χρωματοσίνης DNA (92). Στα θηλαστικά, η συνηθέστερη επιγενετική τροποποίηση του κλώνου DNA περιλαμβάνει την ενζυματική μεταφορά μίας ομάδας μεθυλίου στην πέμπτη θέση υπολειμμάτων κυτοσίνης σε δινουκλεοτίδια CpG (127). Η μεθυλίωση του DNA έχει πολλούς γνωστούς ρόλους στον οργανισμό των θηλαστικών. Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, είναι απαραίτητο να δημιουργήσουν ειδικά για τον ιστό μοτίβα έκφρασης γονιδίων (137). Είναι επίσης σημαντικό για την απενεργοποίηση των χρωμοσωμάτων X, όπου το X-χρωμόσωμα σιωπά στα θηλυκά και για γονική αποτύπωση, όπου ένα γονικό αλληλόμορφο αδρανοποιείται (43). Το πρότυπο της μεθυλίωσης του DNA στις νησίδες CpG που βρίσκονται εντός ή κοντά στις περιοχές του υποκινητή είναι γνωστό ότι επηρεάζει τον ρυθμό μεταγραφής του γονιδίου μεταβάλλοντας την τοπική δομή της χρωματίνης και τροποποιώντας έτσι την πρόσβαση των παραγόντων μεταγραφής στο DNA (127). Τα πρότυπα μεθυλίωσης DNA καθιερώνονται και διατηρούνται με τις DNA μεθυλοτρανσφεράσες (DNMTs), πρωτεΐνες δέσμευσης CpG με μεθυλομάδα και, όπως αποδείχθηκε πρόσφατα, μικρά μόρια RNA (26, 31, 52, 98, 167)

Υπάρχουν αρκετά στοιχεία που αποδεικνύουν ότι τα χημικά τοξικά έχουν αρνητικές επιπτώσεις όχι μόνο στα άτομα που εκτίθενται άμεσα στην τοξική ουσία αλλά και στους απογόνους τους. Ένα από τα πιο δραματικά παραδείγματα είναι η διαιθυλοστιλβεστρόλη, ένα συνθετικό μη στεροειδές οιστρογόνο που συνταγογραφήθηκε τη δεκαετία του '70 για να αποφευχθεί η αποβολή σε γυναίκες με ιστορικό αποβολών. Ενώ το φάρμακο βοήθησε τις εγκυμοσύνες να μην αποβάλουν, προκάλεσε σοβαρές αναπτυξιακές ανωμαλίες στα έμβρυα και αύξησε τον κίνδυνο για καρκίνο του μαστού και σπάνιας μορφής αδενοκαρκινώματος σε κορίτσια των οποίων οι μητέρες εκτέθηκαν στο φάρμακο κατά το πρώτο τρίμηνο της εγκυμοσύνης (118). Επιπλέον, ο κίνδυνος εμφάνισης καρκίνου φαίνεται να μεταδίδεται και στην επόμενη γενιά. Μια κλινική μελέτη ανέφερε ότι ένα κορίτσι ηλικίας 15 ετών, της οποίας η γιαγιά της μητέρας εκτέθηκε σε διαιθυλοστιλβεστρόλη κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, διαγνώστηκε με πολύ σπάνια μορφή καρκίνου μικρών κυττάρων στις ωοθήκες (17). Πολλές περισσότερες εγγενείς μητέρες από το αναμενόμενο ανέπτυξαν επίσης καρκίνο των ωοθηκών (159). Παρόλο που τα ευρήματα αυτά είναι από τα πρώτα και πρέπει να επιβεβαιωθούν από περαιτέρω μελέτες διαγενεακής προέλευσης, υποδεικνύουν ότι η επιβλαβής επίδραση ενός φαρμάκου μπορεί να μεταδοθεί από γενιά σε γενιά. Τέτοιο διαγονιδιακό αποτέλεσμα της διαιθυλοστιλβεστρόλης παρατηρήθηκε επίσης σε ποντίκια. Παρόμοια με τον άνθρωπο, η περιγεννητική έκθεση στις προκαλούμενες από το φάρμακο

ανωμαλίες στην εξέλιξη της μήτρας και στον καρκίνο της μήτρας στην πρώτη και τη δεύτερη γενιά. Αυτές οι ανωμαλίες πιστεύετε πως προέκυψαν από μη φυσιολογική μεθυλίωση του DNA σε ένα γονίδιο που ελέγχει την εξέλιξη της μήτρας (γονίδιο homeobox HOXA10) και σε γονίδια καρκίνου της μήτρας (20., 2003, Newbold et al. Haven, 1997).

Η μεταγενέστερη μετάδοση των επιβλαβών επιπτώσεων των ενδοκρινικών διαταρακτών που υπάρχουν στο περιβάλλον μας επιδείχθηκε σε αρουραίους, τόσο στα θηλυκά όσο και στα αρσενικά. Οι αρουραίοι που εκτέθηκαν στον ενδοκρινικό διαταρακτηραστή βινκλοζολίνη, ένα μυκητοκτόνο που χρησιμοποιείται συνήθως για γεωργικές καλλιέργειες φρούτων ή το μεθοξυχλωρικό παρασιτοκτόνο, κατά τη διάρκεια του προσδιορισμού του γονιδιακού φύλου (εμβρυϊκό στάδιο E8-E15, F1), έχουν μειωμένους αριθμούς σπερματοζωαρίων και κινητικότητα σπέρματος και αυξημένη απόπτωση σπερματογενών κυττάρων (40, 160). Αυτά τα γνωρίσματα που προκαλούνται από το φάρμακο μεταδίδονται στον αρσενικό απόγονο μέσω της αρσενικής γενετικής γραμμής σε τρεις γενιές από την έκθεση στο τοξικό (F2-F4) και σχετίζονται με μη φυσιολογική μεθυλίωση του DNA στο σπέρμα (4). Η έκθεση σε βινκλοζολίνη από το E8 έως το E14 βρέθηκε επίσης πως προκαλεί ανωμαλίες στην εγκυμοσύνη, συμπεριλαμβανομένης της αιμορραγίας της μήτρας και / ή της αναιμίας, σε δύο γενιές σε γυναίκες (115). Επιπλέον, επηρεάζει τη γονιμότητα, η βινκλοζολίνη αυξάνει επίσης το ποσοστό επίπτωσης του σχηματισμού όγκων σε ηλικιωμένους άνδρες που εκτίθενται σε βινκλοζολίνη (F1) προγενετικά και στους απογόνους τους (F2-F4) (4). Έτσι, είναι πλέον προφανές ότι η έκθεση σε χημικά τοξικά συστατικά επηρεάζει την φυσιολογική μεθυλίωση στα άτομα που εκτίθεντο και η διαφορετική μεθυλίωση μπορεί να μεταδοθεί και στις επόμενες. Αυτά τα αποτελέσματα παραμένουν καθ' όλη τη διάρκεια ζωής τους και εξακολουθούν να υπάρχουν σε ηλικιωμένα ζώα. Ο μηχανισμός μετάδοσης υποστηρίζετε πως είναι το αποτέλεσμα της ανώμαλης μεθυλίωσης του DNA στη βλαστική γραμμή.

2.2.1 Επιγενετική κληρονομιά και διατροφή

Τώρα γίνεται σαφές ότι η κακή διατροφή ή η μειωμένη διαθεσιμότητα τροφής μπορεί να έχει καταστροφικές επιπτώσεις σε διάφορες γενιές. Ένα αξιοσημείωτο παράδειγμα τέτοιων επιπτώσεων είναι οι γυναίκες που υποβλήθηκαν σε υποσιτισμό κατά το τελευταίο τρίμηνο της εγκυμοσύνης, εξαιτίας ενός ναζιστικού εμπάργκο για την προμήθεια τροφίμων στη Δυτική Ολλανδία κατά τη διάρκεια του Β Παγκοσμίου Πολέμου.

Τα βρέφη που γεννήθηκαν από αυτές τις γυναίκες αναφέρθηκαν ότι έχουν μικρότερο βάρος κατά τη γέννηση και αυτό παρατηρήθηκε επίσης στη μετέπειτα γενεά παρά το γεγονός ότι δεν υπήρχε περαιτέρω διαιτητικός περιορισμός κατά τη σύλληψη ή την εκτροφή. Αυτές οι παρατηρήσεις υποδηλώνουν διαγονιδιακό αποτέλεσμα της διατροφής στο βάρος κατά τη γέννηση (151). Μια πρόσφατη μελέτη ανέφερε περαιτέρω ότι η διάθεση τροφίμων της γιαγιάς και του παππού της συζύγου είναι συνδεδεμένη με το ο κίνδυνος θνησιμότητας σε εγγονές και εγγόνια, αντίστοιχα. Αυτό παρατηρήθηκε όταν η παροχή τροφίμων ήταν ανεπαρκής κατά τη διάρκεια της αργής περιόδου ανάπτυξης στα μέσα της παιδικής ηλικίας τόσο στους παππούδες όσο και κατά την πρώιμη προγεννητική και μεταγεννητική ζωή της γιαγιάς (121)

Παρόμοιο φαινόμενο παρατηρήθηκε σε πειραματόζωα, ιδιαίτερα σε αρουραίους υποσιτισμένους πριν ή κατά τη διάρκεια της κύησης (39, 175). Όπως και για την ολλανδική πείνα, οι θηλυκοί αρουραίοι που είχαν διαίτα χαμηλής περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες πριν και κατά τη διάρκεια της κύησης έκαναν νεογνά με χαμηλότερο σωματικό και εγκεφαλικό βάρος, αποτέλεσμα που συσχετίζεται με μειωμένο επίπεδο DNA και πρωτεΐνης στον εγκέφαλο. Αυτή η μείωση δεν παρατηρήθηκε όταν εμφανίστηκε περιορισμός τροφής μετά τον τοκετό. Ωστόσο, η επίδραση κληρονομήθηκε από τους απογόνους των υποσιτισμένων νεογνών που επίσης είχαν ασυνήθιστα χαμηλό σωματικό βάρος εγκεφάλου και σώματος (175). Οι απόγονοι δεύτερης γενιάς είχαν συγκριτικά χαμηλό βάρος γέννησης, είχαν βραδύτερο ρυθμό ωρίμανσης και εμφάνισαν κακή γνωστική απόδοση στο λαβύρινθο Hebb-Williams (39). Δεδομένου ότι αυτές οι μελέτες σε τρωκτικά πραγματοποιήθηκαν πριν από την μοριακή πρόοδο στην επιγενετική, οι μηχανισμοί που διέπουν τη μετάδοση των αποτελεσμάτων μιας κακής διατροφής παραμένουν άγνωστοι, αλλά θα ήταν ενδιαφέρον να διερευνηθούν.

Λόγω της αύξησης της παχυσαρκίας στις δυτικές χώρες, μελετήθηκε επίσης και η διαγονιδιακή επίδραση μιας μητρικής διαίτας υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά σε επόμενες γενεές. Η μητρική έκθεση σε υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά αυξάνει το μήκος του σώματος και μειώνει την ευαισθησία στην ινσουλίνη δύο γενιές της αρχικής έκθεσης (47). Αυτές οι ανωμαλίες μπορούν να μεταδοθούν τόσο από την μητέρα όσο και από τον πατέρα και το αποτέλεσμα ενισχύεται περαιτέρω όταν εκτρέφονται θηλυκοί και αρσενικοί απόγονοι της μητρικής έκθεσης σε υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά (47)

Γενικά αυτά τα ευρήματα στον άνθρωπο και στα τρωκτικά υποδηλώνουν ότι επιγενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες εμπλέκονται στη μετάδοση του αποτελέσματος της ανεπαρκούς ή υπερβολικής διαίτας, αλλά αυτοί οι παράγοντες παραμένουν άγνωστοι. Είναι πιθανό να είναι πολλαπλάσια, αλλά μια πρόσφατη μελέτη έδειξε μεταβολές στη μεθυλίωση του ONA του υποκινητή του GH5R στον εγκέφαλο των ποντικών που εκτίθενται σε δίαιτα με υψηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά (47). Ωστόσο, απαιτείται περισσότερη έρευνα για να καθοριστεί η έκταση της συμβολής των επιγενετικών μηχανισμών.

Επιγενετική κληρονομιά και φτωχό πρώιμο περιβάλλον

Η επιρροή της ποιότητας του περιβάλλοντος στις αρχές της ζωής βρίσκεται σε έντονη έρευνα. Είναι πλέον σε μεγάλο βαθμό αναγνωρισμένο ότι η κακοποίηση ή το τραύμα επηρεάζει έντονα τα άτομα καθ' όλη τη διάρκεια της ενήλικης ζωής τους. Μακροπρόθεσμες μελέτες αποκάλυψαν ότι η αφοσίωση των παιδιών προβλέπει την ικανότητα ενός παιδιού να διαμορφώνει τις κατάλληλες σχέσεις μεταξύ των ομοτίμων και την κοινωνικότητα του, τη συμπεριφορά ανάληψης κινδύνου, την επιτυχία του σχολείου ή το ποσοστό εγκατάλειψης. Η επιτυχία στο σχολείο είναι πράγματι μια σημαντική παράμετρος που μπορεί να προβλεφθεί με ακρίβεια 77%, βασισμένη αποκλειστικά στην ποιότητα της πρώιμης φροντίδας (Harper, 2005, Sroufe, 2002). Επιπλέον, η κακομεταχείριση και τα παιδικά τραύματα είναι γνωστό ότι αυξάνουν τον κίνδυνο κατάθλιψης και διαταραχών άγχους σε ενήλικα άτομα (72). Ενώ υπάρχει ένα υψηλό επίπεδο μετάδοσης των διαταραχών άγχους και μια ισχυρή σχέση μεταξύ διαταραχών ανησυχίας γονέα και παιδιού, αυτό δεν μπορεί να εξηγηθεί από τους γονείς μόνο, αλλά αντ' αυτού μπορεί να προβλεφθεί από ιδιοσυστατικούς παράγοντες, όπως ιδιοσυγκρασία (44, 93, 105, 144, 171).

Η εμμονή των διαταραχών που μπορεί να έχουν προκύψει από την κακομεταχείριση στην παιδική ηλικία οδήγησε τους ερευνητές να διερευνήσουν εάν η μεθυλίωση του DNA παίζει κάποιο ρόλο. Σε αρουραίους, η ποσότητα της μητρικής φροντίδας που παρέχεται κατά την πρώιμη ανάπτυξη έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει το πρότυπο της μεθυλίωσης DNA στο εγκέφαλο του μικρού ποντικίου. Με βάση τις ατομικές διακυμάνσεις στη μητρική φροντίδα που παρέχονται από θηλυκούς αρουραίους, ο Michael Meaney και οι συνάδελφοί του διερεύνησαν τους μηχανισμούς που μπορούν να υποστούν αυτές τις διακυμάνσεις. Οι θηλυκοί αρουραίοι επιλέχθηκαν με βάση την ικανότητά τους να καλλιεργηθούν και

τοποθετήθηκαν σε δύο ομάδες θεραπείας, υψηλή νοσηλεία και αρθρίτιδα (ABN-LG) και χαμηλή ABN-LG. Μελέτες των νεογνών που εκτρέφονται από υψηλά φράγματα ABN-LG έδειξαν ότι αυτά τα νεογνά έχουν αυξημένη έκφραση γλυκοκορτικοειδούς υποδοχέα (GR) στον υπόκαμπο, ισχυρότερη και γλυκοκορτικοειδή ευαισθησία ανάδρασης από τα μικρά φτερά ABN-LG (169). Αυτές οι επιδράσεις συσχετίστηκαν με χαμηλότερη μεθυλίωση του DNA στην περιοχή προαγωγού του GR και μια σχετιζόμενη αύξηση της δέσμευσης του επαγόμενου από παράγοντα ανάπτυξης του νευρικού παράγοντα παράγοντα μεταγραφής της πρωτεΐνης A στην περιοχή προαγωγού του GR (169). Επιπλέον, έδειξαν ότι όλες οι επιδράσεις της υψηλής εκτροφής ABN-LG θα μπορούσαν να αντιστραφούν στους ενήλικους απογόνους με ενδοεγκεφαλοκοιλιακή έγχυση L-μεθειονίνης, η οποία δρα ως δότης μεθυλομάδας (169). Αυτό καταδεικνύει ότι οι αλλαγές στο επιγονόμετρο που δημιουργούνται από το περιβάλλον κατά την πρώιμη ανάπτυξη μπορούν να αντιστραφούν από περιβαλλοντικούς ερεθισμούς ακόμη και σε ενήλικες, με έμφαση στην “πλαστικότητα” της μεθυλίωσης του DNA στον ενήλικο εγκέφαλο.

Τα ευρήματα από τα πειράματα των τρωκτικών επιβεβαιώθηκαν πρόσφατα από μια μελέτη στον άνθρωπο που αφορούσε το πρώιμο περιβάλλον στη δημιουργία μοτίβων μεθυλίωσης. Αυτή η μελέτη παρείχε αποδείξεις ότι η παιδική κακοποίηση σχετίζεται επίσης με ανώμαλη μεθυλίωση του ενήλικου ανθρώπινου εγκεφάλου. (100). Η μεθυλίωση στον προαγωγό υποδοχέα γλυκοκορτικοειδούς ειδικού για τον νευρώνα στον εγκέφαλο των θυμάτων αυτοκτονίας που δεχτήκαν κακοποίηση στην παιδική τους ηλικία ήταν σημαντικά υψηλότερη από ό, τι στα θύματα αυτοκτονίας που δεν είχαν κακοποιηθεί ή από τα άτομα οπού ήταν για control. Η αύξηση στη μεθυλίωση συσχετίστηκε με μειωμένη έκφραση του υποδοχέα γλυκοκορτικοειδών (100)

Πέραν της αλλαγής της μεθυλίωσης, αποδείχθηκε επίσης πρόσφατα ότι ένα κακό μεταγεννητικό περιβάλλον έχει ως αποτέλεσμα διαγενεακή μετάδοση ανωμαλιών μεθυλίωσης στον εγκέφαλο του αρουραίου. Τα μικρά ποντίκια που λαμβάνουν ημερήσια με μη ποιοτική φροντίδα από τις μητέρες τους συμπεριλαμβανομένου του πατήματος των μικρών, της πτώσης, του συρσίματός και της ενεργού αποφυγής από μη βιολογικά κατά τη διάρκεια των μεταγεννητικών ημερών (PND) 1 έως 7 έχουν μειωμένη έκφραση BDNF και αυξημένη μεθυλίωση του γονιδίου BDNF στον προμετωπιαίο φλοιό όταν ενηλικιωθούν (131). Οι απόγονοι των θηλυκών που εκτέθηκαν σε κακοήθεια κατά τη διάρκεια της πρώιμης ζωής έδειξαν επίσης αυξημένη μεθυλίωση του BDNF στον προμετωπιαίο φλοιό (131). Τα ευρήματα είναι ιδιαίτερα ενδιαφέροντα διότι, στον άνθρωπο, η αύξηση της μεθυλίωσης του

γονιδίου BDNF στον μετωπιαίο φλοιό συνδέεται με μεγάλες ψυχώσεις όπως η σχιζοφρένεια και η διπολική διαταραχή (107). Έτσι, αυτή η μελέτη στους αρουραίους υποδεικνύει ότι η κακοποίηση κατά την πρώιμη ανάπτυξη μπορεί όχι μόνο να προδιαθέτει άτομα με μεγάλες ψυχώσεις αλλά και για τους απογόνους τους μέσω μετάδοσης μη φυσιολογικών μοτίβων μεθυλίωσης στις επόμενες γενιές. Είναι σημαντικό ότι η κακομεταχείριση κατά την πρώιμη ανάπτυξη προκάλεσε την κακή φροντίδα της μητέρας στους θηλυκούς απογόνους, όταν οι ίδιοι είχαν νεογνά (131). Έτσι, οι μεταβολές στη μεθυλίωση του BDNF στον εγκέφαλο των απογόνων από τα κακοποιημένα ποντίκια μπορεί να προκύψουν είτε από μετάδοση μεθυλίωσης μέσω των γαμετών είτε από αλλαγές στη μεθυλίωση που προκαλούνται από τη μετάδοση κακής φροντίδας της μητέρας στις γενιές. Ενδιαφέρον παρουσιάζει το ότι η διασταύρωση μεταξύ το ποντικών δεν αντιστρέφει πλήρως τις μεταβολές των επιπέδων μεθυλίωσης, γεγονός που υποδηλώνει ότι η μεταγεννητική εμπειρία δεν είναι ο μόνος παράγοντας που συμβάλλει στην μετάδοση αυτή (131).

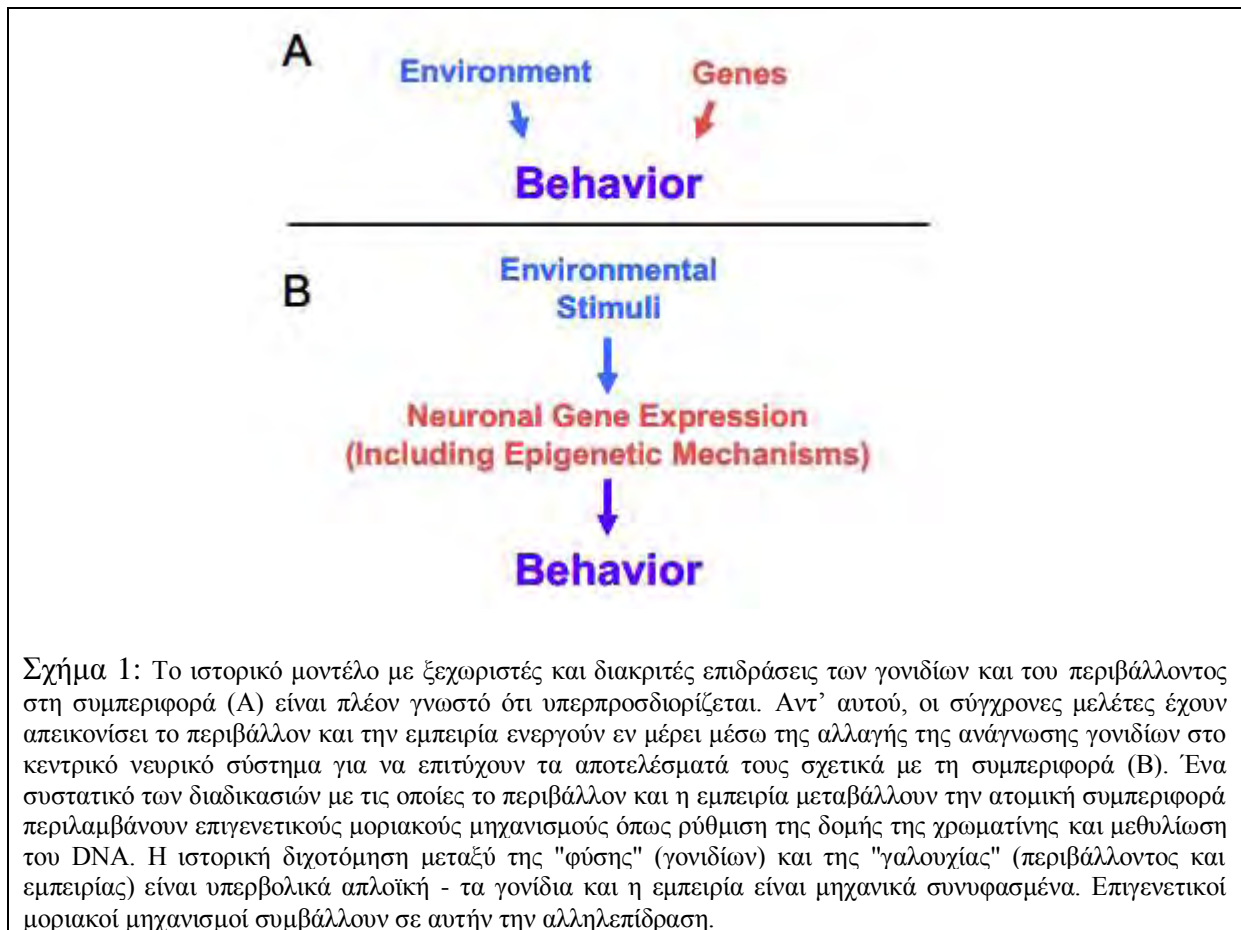
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.....

3.ΕΠΙΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΝΕΥΡΟΕΚΦΥΛΙΣΜΟΣ.....

3.1 Επιγενετική και Κεντρικό Νευρικό Σύστημα

Μια επιπλέον πτυχή επιγενετικού ελέγχου της γονιδιακής έκφρασης αναδύεται τώρα μέσα από πρόσφατες μελέτες επιγενετικών μοριακών μηχανισμών στο νευρικό σύστημα. Έτσι, συσσωρεύονται πειστικά στοιχεία ότι οι επιγενετικοί μηχανισμοί δεν συμβάλλουν μόνο στη φαινοτυπική σκληρή σύνδεση σε κυτταρικό επίπεδο. Αντίθετα, στο νευρικό σύστημα με την αφθονία των τερματικά διαφοροποιημένων, μη διαφοροποιημένων κυττάρων, οι επιγενετικοί μηχανισμοί παίζουν επίσης ρόλο στην οξεία ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης ως απάντηση σε περιβαλλοντικά σήματα, κατάχρησης φαρμάκων και την προσαρμογή. Επιπροσθέτως, οι επιγενετικοί μηχανισμοί φαίνεται να συμβάλλουν τόσο στις ψυχιατρικές όσο και στις νευρολογικές διαταραχές. Αναδρομικά, αυτοί οι ρόλοι στους επιγενετικούς μοριακούς μηχανισμούς ίσως δεν προκαλούν έκπληξη. Οι επιγενετικοί μηχανισμοί, ακόμη και στο ρόλο τους στην ανάπτυξη, συμμετέχουν στην διεπαφή του περιβάλλοντος και του γονιδιώματος. Στους ευρύτερους όρους της νευροεπιστήμης και της ψυχιατρικής, υπάρχει μια αναδύομενη

μαγεία στην επιγενετική, επειδή υπάρχει μια κρυμμένη μηχανιστική στρώση που λειτουργεί στη διασύνδεση περιβάλλοντος-γονιδιώματος (Σχήμα 1).



Επιγονιδιακά σημεία

Υπάρχουν δύο βασικοί μοριακοί επιγενετικοί μηχανισμοί οι οποίοι μελετώνται ευρέως στην παρούσα ρύθμιση της δομής της χρωματίνης μέσω μετα-μεταφραστικών τροποποιήσεων ιστόνης και μεθυλίωσης του DNA. Άλλοι επιγενετικοί μοριακοί μηχανισμοί, όπως η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης μέσω των μη κωδικοποιημένων RNAs και των μηχανισμών που βασίζονται στην πρωτεΐνη prion, είναι επίσης γνωστό ότι υπάρχουν.

Ο πρώτος μείζων μηχανισμός με τον οποίο το γονιδίωμα μπορεί να επισημανθεί επιγενετικά είναι η μεθυλίωση του DNA. Η μεθυλίωση του DNA είναι μια άμεση χημική τροποποίηση

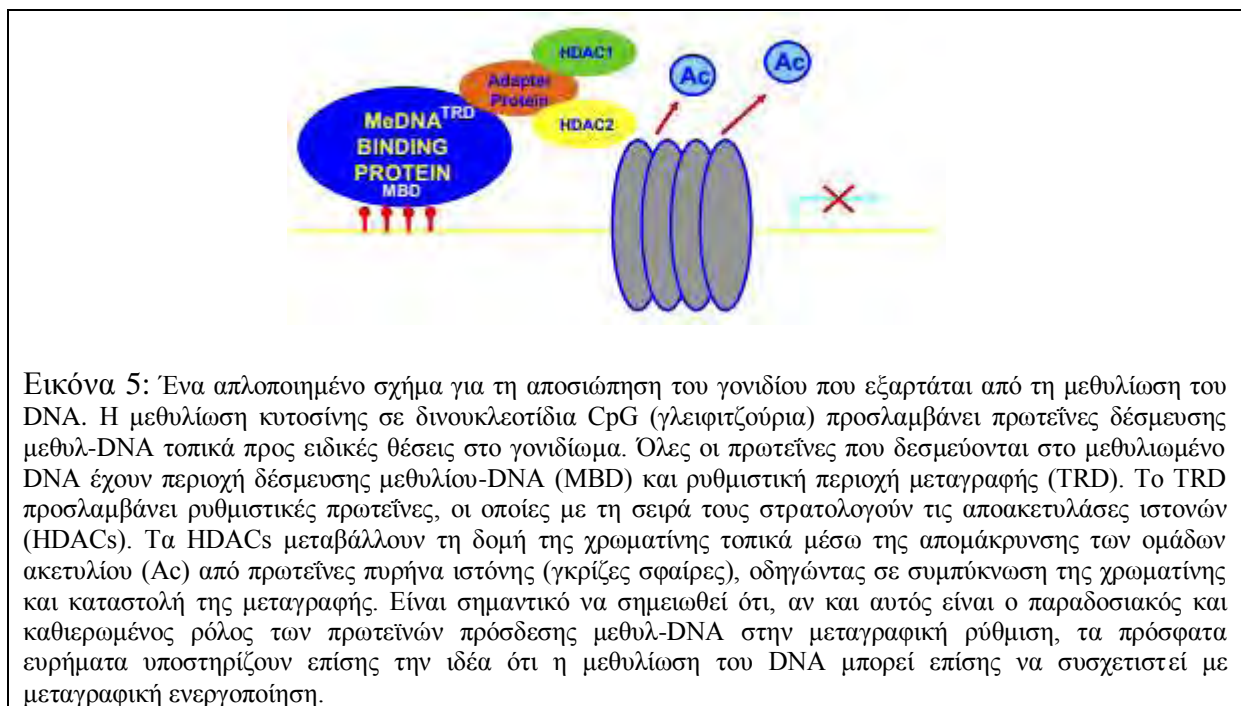
μιας πλευρικής αλυσίδας κυτοσίνης η οποία προσθέτει μια ομάδα -CH₃ διαμέσου ενός ομοιοπολικού δεσμού. Μεθυλίωση του DNA καταλύεται από μια κατηγορία ενζύμων γνωστών ως DNA μεθυλτρανσφεράσες (DNMTs) (116). Οι DNMTs μεταφέρουν μεθυλομάδες σε υπολείμματα κυτοσίνης μέσα σε μια συνεχή αλυσίδα DNA, ειδικά στη θέση 5 του δακτυλίου πυριμιδίνης (29,136). Δεν είναι δυνατόν να μεθυλιώνονται όλες οι κυτοσίνες. Συνήθως οι κυτοσίνες πρέπει να ακολουθούνται αμέσως από μια γουανίνη για να μεθυλιωθούν (15,24). Αυτές οι αλληλουχίες δινουκλεοτιδίου "CpG" είναι σε μεγάλο βαθμό υποεκπροσωπούμενες στο γονιδίωμα σε σχέση με αυτό που θα προβλεφθεί σε μια τυχαία πιθανότητα. Ωστόσο, περίπου το 70% των δινουκλεοτιδίων CpG που υπάρχουν είναι μεθυλιωμένα (38). Τα υπόλοιπα κανονικά μη μεθυλιωμένα δινουκλεοτίδια CpG εμφανίζονται σε μικρές συμπλέγματα, γνωστές ως "νησίδες CpG" (60,16)

Υπάρχουν δύο παραλλαγές DNMTs: DNMTs "maintenance" και DNMTs "de novo". Η ενζυμική ισομορφή DNMT1 είναι η DNMT maintenance. Οι DNMTs 3a και 3b είναι οι ισομορφές DNMT de novo. Τόσο η maintenance όσο και οι de novo DNMT εκφράζονται στα περισσότερα κύτταρα του σώματος. Οι δύο παραλλαγές των DNMT διαφέρουν σε ένα σημαντικό σημείο, που σχετίζονται με τις συνθήκες κάτω από τις οποίες θα μεθυλιώνουν το DNA. Οι DNMTs de novo μεθυλιώνουν προηγουμένως μη μεθυλιωμένες θέσεις CpG σε θέσεις DNA που δεν έχουν μεθυλοκυτοσίνη σε κανένα από τα δύο τμήματα DNA. Η ισομορφία DNMT maintenance μεθυλιώνει ημιμεθυλιωμένο DNA-DNA που έχει μεθυλιωμένη CpG που υπάρχει ήδη σε έναν κλώνο αλλά δεν υπάρχει μεθυλο-κυτοσίνη στον συμπληρωματικό κλώνο. Αυτές οι δύο διαφορετικές ισομορφές με αυτό τον τρόπο

εξυπηρετούν δύο διαφορετικούς ρόλους στο κύτταρο. Τα de novo DNMTs τοποθετούν νέα σήματα μεθυλίωσης στο DNA, για παράδειγμα όταν είναι συγκεκριμένα γονίδια αρχικά σιωπήθηκαν ως μέρος του προσδιορισμού της τύχης των κυττάρων. Οι DNMT συντήρησης διατηρούν τα σήματα μεθυλίωσης μετά την κυτταρική διαίρεση. Αναπαράγουν τα σημάδια μεθυλο-κυτοσίνης στο νέο συνθετικό συμπληρωματικό DNA κλώνο που προκύπτει από την αντιγραφή του DNA.

Ποιες είναι οι λειτουργικές συνέπειες της μεθυλίωσης του DNA; Στις περισσότερες περιπτώσεις που έχουν μελετηθεί μέχρι στιγμής, η μεθυλίωση του DNA σχετίζεται με την καταστολή της γονιδιακής μεταγραφής και σε πολλές περιπτώσεις η εκτεταμένη μεθυλίωση του DNA προκαλεί πλήρη σίγαση του σχετικού γονιδίου. Οι ακριβείς μοριακές διεργασίες μέσω των οποίων συμβαίνει αυτό είναι σύνθετες και μια περιοχή έντονης έρευνας στις μέρες

μας. Εντούτοις, ένα απλοποιημένο μοντέλο παρουσιάζεται στην Εικόνα 5. Στην ουσία, η μεθυλίωση κυτοσίνης σε δινουκλεοτίδια CpG προσλαμβάνει πρωτεΐνες δέσμησης μεθυλο-DNA, σε συγκεκριμένες θέσεις στο γονιδίωμα. Οι πρωτεΐνες που δεσμεύονται στο μεθυλιωμένο DNA έχουν τόσο την περιοχή δέσμησης μεθυλο-DNA (MBD) όσο και την περιοχή ελέγχου μεταγραφής (TRD). Το TRD προσλαμβάνει πρωτεΐνες προσαρμογέα / scaffolding, οι οποίες με τη σειρά τους στρατολογούν αποακετυλάσες ιστών (HDAC) στην τοποθεσία. Οι HDAC μεταβάλλουν τη δομή της χρωματίνης τοπικά - «χρωματίνη» είναι ο όρος που περιγράφει σύμπλοκα πυρηνικού DNA / πρωτεΐνης. Τα HDACs μεταβάλλουν τη δομή της χρωματίνης μέσω της απομάκρυνσης ακετυλομάδων από πρωτεΐνες πυρήνα ιστόνης, οδηγώντας στη συμπίκνωση της χρωματίνης και της μεταγραφικής καταστολής. Έτσι, μέσω αυτού του σύνθετου και πολύ ρυθμιζόμενου βιοχημικού μηχανισμού, η μεθυλίωση του DNA ενεργοποιεί την τοπική ρύθμιση της τρισδιάστατης δομής του DNA και των σχετικών πρωτεϊνών της ιστόνης, με αποτέλεσμα αλληλεπίδραση μεταξύ της DNA και του πυρήνα της ιστόνης και μεταγραφική καταστολή με αλλοστερικές μεθόδους. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι ενώ η μεθυλίωση του DNA συνήθως (και ιστορικά) σχετίζεται με μεταγραφική καταστολή, πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι η μεθυλίωση του DNA μπορεί επίσης να συσχετιστεί με μεταγραφική ενεργοποίηση, με μηχανισμούς που δεν έχουν προσδιοριστεί με ακρίβεια (25,37).



Η εξέταση του μηχανισμού της μεταγραφικής σίγασης με μεθυλίωση του DNA μας οδηγεί στη δεύτερη μεγαλύτερη κατηγορία επιγενετικών σημάτων, μετά μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστόνων.

Επιγενετική επισήμανση των ιστοτονών

Οι ιστόνες είναι εξαιρετικά σημαντικές πρωτεΐνες των οποίων η λειτουργία είναι να οργανώνουν το DNA μέσα στον πυρήνα. Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κείμενο, στον πυρήνα, το DNA συσκευάζεται σφιχτά σε χρωματίνη, ένα σύμπλεγμα DNA-πρωτεΐνης που αποτελείται από DNA σε διπλή έλικα, πρωτεΐνες ιστονών και διάφορες σχετικές ρυθμιστικές πρωτεΐνες. Η αλληλεπίδραση μεταξύ των ιστονών, οι οποίες σχηματίζουν τον πυρήνα του σωματιδίου χρωματίνης και το DNA, προκαλείται εν μέρει από την N-τελική ουρά των πρωτεϊνών της ιστόνης. Μπορούμε να φανταστούμε ότι η χρωματίνη είναι ένας πυρήνας οκτώ πρωτεϊνών ιστόνης (ιστόνες 2A, 2B, 3 και 4, με δύο αντίγραφα κάθε μορίου) με το DNA τυλιγμένο γύρω από αυτό σαν σχοινί σε βίντσι. Οι δομικές μελέτες δείχνουν ότι οι N-τερματικές ουρές των ιστονών προεξέχουν πέρα από το DNA και είναι διαθέσιμες για μετά τη μετάφραση τροποποιήσεις (90).

Αρκετές ειδικές θέσεις μετα-μεταφραστικής τροποποίησης υπάρχουν εντός των N-τερματικών ουρών πρωτεϊνών ιστόνης και η τροποποίηση αυτών των θέσεων ρυθμίζει τη συνολική δομή της χρωματίνης. Επί του παρόντος, τέσσερις ξεχωριστές μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ουρών ιστόνης έχουν χαρακτηριστεί καλά: ακετυλίωση, μεθυλίωση, ουβικιτινίωση και φωσφορυλίωση. Όλες αυτές οι τροποποιήσεις χρησιμεύουν ως επιγενετικές ετικέτες (149). Ωστόσο, θα ασχοληθούμε μόνο με την ακετυλίωση της ιστόνης.

Η ακετυλίωση των ιστονών εμφανίζεται σε υπολείμματα λυσίνης, συγκεκριμένα στην αμινομάδα της πλευρικής αλυσίδας, η οποία ουσιαστικά εξουδετερώνει το θετικό τους φορτίο. Οι ακετυλοτρανσφεράσες ιστών (HAT) καταλύουν την άμεση μεταφορά μιας ακετυλομάδας από ακετυλο-CoA στην ομάδα α-NH των καταλοίπων λυσίνης εντός μιας ιστόνης (156, 155, 87, 154). Η ακετυλίωση ιστόνης είναι μια αναστρέψιμη διαδικασία και τα ένζυμα που καταλύουν την αναστροφή της ακετυλίωσης της ιστόνης είναι γνωστά ως HDACs.

Οι κλασσικές ισομορφές των HDACs καταλύουν την απομάκρυνση ακετυλομάδων από υπολείμματα λυσίνης μέσω συστήματος εξαρτώμενου από Zn²⁺ (23, 55). Η πρόσφατα

χαρακτηρισμένη οικογένεια SIR2 των HDAC ("Sirtuins") λειτουργεί μέσω ενός μηχανισμού που εξαρτάται από νικοτιναμιδικό αδενικό δινουκλεοτίδιο (NAD), αλλά δεν θα το αναλύσουμε εδώ (22). Στο υπόβαθρο, υπάρχουν συνολικά 11 διαφορετικές κλασικές ισομορφές HDAC, που χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Οι HDAC 1, 2, 3 και 8 είναι HDAC κατηγορίας I, ενώ η τάξη II περιλαμβάνει ισομορφές HDAC 4, 5, 6, 7, 9, 10 και 11. Οι κλασικές ισομορφές των HDACs καταλύουν την απομάκρυνση ακετυλομάδων από υπολείμματα λυσίνης Ένα εξαρτώμενο από Zn²⁺ σύστημα φόρτισης (23, 55). Η πρόσφατα χαρακτηρισμένη οικογένεια SIR2 των HDAC ("Sirtuins") λειτουργεί μέσω ενός μηχανισμού που εξαρτάται από νικοτιναμιδικό αδενικό δινουκλεοτίδιο (NAD), αλλά δεν θα το αναλύσουμε εδώ (22). Στο υπόβαθρο, υπάρχουν συνολικά 11 διαφορετικές κλασικές ισομορφές HDAC, που χωρίζονται σε δύο κατηγορίες. Τα HDAC 1, 2, 3 και 8 είναι HDAC κατηγορίας I, ενώ η κατηγορία II περιλαμβάνει ισομορφές HDAC 4, 5, 6, 7, 9, 10 και 11.

Οι αναστολείς HDAC εξελίσσονται ταχύτατα στις μέρες μας στη φαρμακοβιομηχανία, λόγω της πιθανής εφαρμογής τους στη θεραπεία του καρκίνου και της αναδυόμενης πιθανότητας χρήσης τους σε νευρολογικές και ψυχιατρικές διαταραχές. Οι αναστολείς HDAC είναι ο κύριος τρόπος χειρισμού του επιγονιδιώματος στις μέρες μας φαρμακολογικώς. Από την άποψη κάποιων κοινώς διαθέσιμων αναστολέων HDAC, η Τριχοστατίνη Α (TsA) αναστέλλει τα HDAC ευρέως σε αμφότερες τις Τάξεις I και II, ενώ οι αναστολείς βουτυρικού νατρίου και υποεροϋλανυλιδικού υδροξαμικού οξέος (SAHA, γνωστός και ως Vorinostat ή Zolinza) επιλέγουν για HDAC κατηγορίας I. Το βαλπροϊκό είναι επίσης ένας αναστολέας HDAC, αλλά αυτό το φάρμακο έχει επιπλέον στόχους και ο ρόλος της αναστολής HDAC στην κλινική αποτελεσματικότητα του βαλπροϊκού είναι ασαφής αυτή τη στιγμή.

Η κύρια πρόβλεψη για την ερμηνεία όλων των μελετών που χρησιμοποιούν αναστολείς HDAC είναι το γεγονός ότι η "αποακετυλάση ιστόνης" είναι στην πραγματικότητα μια εσφαλμένη ονομασία. Τα ένζυμα αποακετυλάσης ιστόνης θα πρέπει να περιγράφονται με μεγαλύτερη ακρίβεια ως "αποακετυλάσες λυσίνης". Οι πλευρικές αλυσίδες αμινοξέων της λυσίνης ακετυλιώνονται σε μια ευρεία ποικιλία διαφορετικών κυτταρικών πρωτεϊνών εκτός από τις απλώς ιστόνες. Ο κατάλογος των γνωστών ακετυλιωμένων πρωτεϊνών λυσίνης είναι αρκετά μεγάλος, συμπεριλαμβανομένων των παραγόντων μεταγραφής, των κυτταροσκελετικών πρωτεϊνών και μιας ευρείας ποικιλίας μεταβολικών ενζύμων. Τα HDAC λειτουργούν σε όλες αυτές τις πρωτεΐνες και όχι μόνο στο πρωτότυπο υπόστρωμα των ιστονών. Επομένως, οποιαδήποτε συμπεριφορική επίδραση των αναστολέων HDAC μπορεί

να οφείλεται σε αλλοιώσεις στην ακετυλίωση μιας ευρείας ποικιλίας ενδοκυτταρικών στόχων.

Οι διαδικασίες μεταγωγής σήματος που ελέγχουν την ακετυλίωση της ιστόνης στο ώριμο ΚΝΣ μόλις αρχίζουν να διερευνώνται. Ωστόσο, δύο καταγραφές οδών σηματοδότησης έχουν εμπλακεί στον έλεγχο της ακετυλίωσης της ιστόνης και της δομής της χρωματίνης στο ώριμο ΚΝΣ μέχρι στιγμής. Μία οδός είναι στην υπεροικογένεια της πρωτεΐνης κινάσης πρωτεΐνης μιτογόνου (MAPK) - παραδειγματοποιείται από την οδό ERK / MSK / CREB. Σε αυτή τη διαδρομή ρυθμίζεται το εξωκυτταρικό σήμα της κινάσης (ERK) ενεργοποιεί το κατάντη μιτογόνο στόχο και την κινάση που ενεργοποιείται από το στρες (MSK), η οποία με τη σειρά της φωσφορυλιώνει την πρωτεΐνη δέσμευσης ρυθμιστικού στοιχείου κυκλικής-AMP (CREB) (152, 34, 19, 33). Αυτή η φωσφορυλίωση και ενεργοποίηση του CREB προσλαμβάνει πρωτεΐνη σύνδεσης CREB (CBP), η οποία είναι ένα HAT που ρυθμίζει την τοπική δομή της χρωματίνης ως τμήμα της CREB-εξαρτώμενης ενεργοποίησης της μεταγραφής πυρηνικού γονιδίου.

Η δεύτερη γνωστή κατηγορία σηματοδοτικής οδού που ρυθμίζει τη δομή της χρωματίνης στο ώριμο ΚΝΣ είναι η οδός σηματοδότησης πυρηνικού παράγοντα B (NFB). Το NFB είναι ένας παράγοντας μεταγραφής δέσμευσης DNA ο οποίος ελέγχει την ακετυλίωση της ιστόνης και τη δομή της χρωματίνης στο ΚΝΣ με μηχανισμούς που εξακολουθούν να μελετάτε (88, 174). Το NFB ελέγχεται από τον αντίθετο ρυθμιστή αναστολέα της κινάσης B (IKK), ο οποίος είναι ο ίδιος στόχος πολλών αντίθετων ρυθμιστικών σηματοδοτικών σημάτων. Έτσι, συνολικά είναι γνωστό σε αυτό το σημείο ότι τόσο η οδός ERK / MSK / CREB όσο και η οδός IKK / NPB ενεργά ρυθμίζουν τη δομή της χρωματίνης στο ώριμο ΚΝΣ. Εύκολα μπορούμε να υποθέσουμε ότι πολλοί σημαντικοί πρόσθετοι μηχανισμοί περιμένουν να ανακαλυφθούν (117, 80, 28).

Επιγενετική στην ανθρώπινη νοημοσύνη-Συνδρόμια της ψυχικής καθυστέρησης και γνωστικές διαταραχές.

Υπάρχει ένα σημαντικό σύνολο αποδεικτικών στοιχείων, έστω και έμμεσων, που συνεπάγονται αναστάτωση των επιγενετικών μηχανισμών ως αιτιατή βάση για την ανθρώπινη γνωστική δυσλειτουργία. Παρακάτω αναλύονται σύντομα δύο γνωστικές διαταραχές που σχετίζονται με επιγενετική δυσλειτουργία: σύνδρομο Rubinstein-Taybi (RTS) και σύνδρομο Rett (RS).

Κατά την ερμηνεία αυτών των ευρημάτων στο παρόν πλαίσιο, υπάρχει μια σημαντική προειδοποίηση. Κατά την εξέταση αυτών των περιπτώσεων είναι σημαντικό να γίνει διάκριση μεταξύ μιας αναπτυξιακής ανάγκης για τους επιγενετικούς μηχανισμούς που επιτρέπουν το σχηματισμό ενός φυσιολογικού νευρικού συστήματος, έναντι μιας συνεχιζόμενης ανάγκης για αυτούς τους μηχανισμούς ως μέρος της γνωστικής επεξεργασίας καθ' εαυτού στον ενήλικα. Η πλειοψηφία της προσοχής μέχρι σήμερα έχει δικαιολογημένα επικεντρωθεί στους αναπτυξιακούς ρόλους της επιγενετικής στην καθιέρωση της ικανότητας για γνωστική λειτουργία στον ενήλικα. Ωστόσο, τα πειραματικά δεδομένα υποδεικνύουν επίσης τη δυνατότητα ενός συνεχιζόμενου και ενεργού ρόλου για τους επιγενετικούς μηχανισμούς στην ενήλικη γνώση.

Το σύνδρομο Rubinstein-Taybi περιεγράφηκε για πρώτη φορά από τους Rubinstein και Taybi το 1963 (132). 1 άτομο σε κάθε 125.000 γεννήσεις πάσχει από σύνδρομο Rubinstein-Taybi και 1 στους 300 ασθενείς πάσχουν από νοητική καθυστέρηση. Το σύνδρομο Rubinstein-Taybi είναι μια κληρονομική, αυτοσωματική επικρατής ασθένεια (122). Αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι οι ασθενείς με RTS έχουν ποικίλες μεταλλάξεις στην CBP, συμπεριλαμβανομένων των σημειακών μεταλλάξεων και των 5'- ή 3'-ελλήψεων (122, 18). Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η CBP διευκολύνει τη γονιδιακή μεταγραφή συζευγμένη με τον ενεργοποιημένο παράγοντα μεταγραφής CREB και η CBP περιέχει ενδογενή δραστηριότητα HAT, αν και η CBP έχει επίσης και άλλες μοριακές λειτουργίες. Το σημαντικότερο συμπέρασμα αυτής της αναφοράς είναι η πρότασή ότι η μεταβληθείσα δραστηριότητα HAT προκαλεί τουλάχιστον ένα μέρος των γνωστικών ελλειμμάτων που σχετίζονται με το RTS στους ανθρώπους. Με άλλα λόγια, αυτά τα ευρήματα συμβαδίζουν με την ιδέα ενός ρόλου για τους επιγενετικούς μοριακούς μηχανισμούς στον σχηματισμό της ανθρώπινης μνήμης.

Το σύνδρομο Rett περιεγράφηκε για πρώτη φορά το 1966 από τον αυστριακό παιδίατρο Andreas Rett. Το σύνδρομο Rett είναι μια κληρονομική ασθένεια που συνδέεται με το X χρωμόσωμα που προσβάλλει περίπου 1 στις 15.000 γυναίκες ηλικίας 2-18 ετών και εκτιμάται ότι είναι η δεύτερη αιτία νοητικής καθυστέρησης στις γυναίκες (49). Η ανάπτυξη κατά τη διάρκεια περίπου των πρώτων 6 μηνών της ζωής είναι φυσιολογική στους ασθενείς με RS, με τα συμπτώματα να εμφανίζονται αρχικά μεταξύ 3 μηνών και 3 ετών. Το σήμα κατατεθέν της RS είναι μια απεικόνιση των συνεχών στερεοτυπικών κινήσεων των χεριών, όπως το στρίψιμο, το πλύσιμο, το χτύπημα και / ή το κτύπημα. Άλλα συμπτώματα της RS περιλαμβάνουν μειωμένη ανάπτυξη (συμπεριλαμβανομένης της μικροκεφαλίας), μη

φυσιολογική αναπνοή, αταξία στο πόδι, αυτισμό, επιληπτικές κρίσεις και άλλες νευρολογικές δυσλειτουργίες, μαζί με μαθησιακές δυσκολίες και γνωστικά ελλείμματα. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η μετάλλαξη της πρωτεΐνης σύνδεσης μεθυλ CpG 2 (MeCP2) που βρίσκεται στην χρωμοσωμική περιοχή Xq28 προκαλεί RS (145,3).

Το MeCP2 συνδέει λειτουργικά τη μεθυλίωση του DNA με τη μεταγραφή γονιδίων. Ο ρόλος που μπορεί να διαδραματίσει η διατάραξη αυτού του μηχανισμού στα ελλείμματα μνήμης που παρατηρούνται στη RS είναι ακόμη ασαφής και ο MeCP2 πιθανότατα διαδραματίζει εξέχοντα ρόλο κατά την ανάπτυξη. Ωστόσο, όπως και με το RTS, πρόσφατες ανακαλύψεις αναφέρουν ότι οι επιγενετικοί μηχανισμοί παίζουν ρόλο στη μάθηση και στη μνήμη υποδηλώνουν την πιθανότητα ότι όλες οι επιπτώσεις της ανεπάρκειας του MeCP2 στην εκμάθηση και τη γνωστική λειτουργία μπορεί να μην είναι καθαρά αναπτυξιακές. Πράγματι, τα εντυπωσιακά πρόσφατα ευρήματα από το εργαστήριο του Adrian Bird (67) υποστήριξαν την ιδέα ότι ένας ενεργός, μη αναπτυξιακός ρόλος για το MeCP2 εμπλέκεται επίσης σε δυσλειτουργία μνήμης σχετιζόμενη με την RS.

Περιβαλλοντικός πλουτισμός και ανάκτηση της χαμένης μνήμης

Όπως περιγράφηκε στο προηγούμενο κείμενο, οι αναστολείς HDAC έχουν αναγνωριστεί ως ικανοί να βελτιώσουν το σχηματισμό της μνήμης σε μελέτες φυσιολογικών αρουραίων και ποντικών. Επιπλέον, μια ευρεία ποικιλία προγενέστερων εργαστηριακών μελετών σε πειραματόζωα που πρωτοστάτησαν στο εργαστήριο του Bill Greenough (63) απέδειξε ότι ο εμπλουτισμός του περιβάλλοντος (δηλ. Η διάθεση μιας μεγάλης ποικιλίας παιχνιδιών, συσκευών άσκησης και κοινωνικά περίπλοκων κατοικιών) ενισχύει και τη χωρητικότητα της μνήμης.

Έτσι, δύο πολύ διαφορετικοί τύποι θεραπείας, ο εμπλουτισμός του περιβάλλοντος και η αναστολή των HDACs, ενισχύουν τη λειτουργία μνήμης σε πειράματα τρωκτικών. Μπορεί οι δύο αυτές παρατηρήσεις να σχετίζονται μηχανικά; Πρόσφατες μελέτες παρέχουν στοιχεία ότι ο εμπλουτισμός του περιβάλλοντος επιτυγχάνει τα αποτελέσματά του μέσω της αύξησης της ακετυλίωσης ιστόνης στον ιππόκαμπο. Fischer et al. (56) διαπίστωσε ότι ο περιβαλλοντικός εμπλουτισμός συνδέεται με αυξημένη ακετυλίωση ιστόνης στον ιππόκαμπο, μια περιοχή του ΚΝΣ που εμπλέκεται στο σχηματισμό μακροχρόνιας χωρικής μνήμης. Fischer et al. Επιβεβαίωσε επίσης ότι ο εμπλουτισμός του περιβάλλοντος βελτιώνει την ικανότητα χωρικής μνήμης σε ποντίκια και διαπίστωσε ότι αυτή η βελτίωση στη χωρική μνήμη

μιμούνται οι αναστολείς HDAC. Αυτά τα ευρήματα έδωσαν ισχυρή απόδειξη ότι η ρύθμιση της δομής της χρωματίνης εμπλέκεται στη χωρική μνήμη και ότι ο εμπλουτισμός του περιβάλλοντος δρα μέσω της αυξανόμενης ακετυλίωσης της ιστόνης στο ΚΝΣ.

Στις μελέτες τους οι Fischer et al. (56) διαπίστωσαν επίσης ότι οι αναστολείς HDAC όχι μόνο βελτιώνουν την ικανότητα δημιουργίας νέας μνήμης, αλλά αποκαθιστούν την ικανότητα να σχηματίζουν μνήμες σε μοντέλο ποντικών για νευροεκφυλιστικές διαταραχές. Παρήγαγαν αυτά τα ευρήματα χρησιμοποιώντας ένα γενετικά τροποποιημένο μοντέλο ποντικού, που παρήγαγαν, που εμφανίζει επαγωγίμο νευροεκφυλισμό στο ΚΝΣ του. Αυτοί οι τροποποιημένοι ποντικοί έχουν νευρωνική απώλεια στον ιππόκαμπο τους. Έχουν προηγουμένως αποδείξει ότι αυτοί οι ποντικοί έχουν σαφή ελλείμμα σε μακροχρόνια χωρική μνήμη όπως εκτιμήθηκε με μια ποικιλία από προσδιορισμούς συμπεριφοράς. Στις μελέτες τους, απέδειξαν ότι αμφότεροι οι αναστολείς HDAC και ο περιβαλλοντικός εμπλουτισμός αποκαθιστούσαν την ικανότητα χωρικής μνήμης σε αυτούς τους ποντικούς με νευροεκφυλισμό. Αυτή είναι η νέα μελέτη από τους Fischer et al. Έτσι εμπλέκει τους αναστολείς HDAC ως πιθανή νέα θεραπευτική προσέγγιση στις ανθρώπινες νοητικές διαταραχές που προκύπτουν από τον νευροεκφυλισμό. Πράγματι, η εργασία τους και αυτή των άλλων υποδηλώνει ότι οι αναστολείς HDAC μπορεί να είναι μια χρήσιμη γενική θεραπεία για τη δυσλειτουργία της μνήμης που σχετίζεται με τη γήρανση, ως ευρεία κατηγορία (165)

Δυσλειτουργία της μνήμης ως ευρεία κατηγορία (165). Στις μελέτες τους οι Fischer et al. Έθεσαν επίσης μια ενδιαφέρουσα ερώτηση: είναι οι αναστολείς HDAC ικανοί να επιτρέψουν σε ένα ζώο που υφίσταται απώλεια μνήμης μέσω του νευροεκφυλισμού να ανακτήσει τις μνήμες που προφανώς είχαν ήδη χαθεί; Αυτό φαινόταν σχεδόν πέρα από τη σφαίρα της λογικής, αλλά είναι αυτό ακριβώς που οι Fischer et al παρατήρησε. Παρατηρήθηκε ότι είναι ένα αποτέλεσμα της αναστολής HDAC στο μοντέλο νευροεκφυλισμού του ποντικού τους. Σε ένα ιδιαίτερα συναρπαστικό σύνολο πειραμάτων εκπαίδευσαν μια ομάδα ζώων, αφήνοντας τη μνήμη τους για το συγκεκριμένο εκπαιδευτικό γεγονός να εξασθενίσει με την πάροδο του χρόνου (οφείλεται άμεσα ή έμμεσα στο νευροεκφυλισμό στο μοντέλο του ποντικιού τους) και επιβεβαίωσε ότι τα ζώα είχαν χάσει την ικανότητα να ανακαλέσουν αυτή τη μνήμη. Εκπληκτικά, η χορήγηση ενός αναστολέα HDAC αποκατέστησε στη συνέχεια την ικανότητα των ζώων να ανακαλέσουν αυτή τη μνήμη, αποκαθιστώντας την πρόσβαση σε μια μνήμη που είχε προφανώς ήδη χαθεί. Αυτό είναι ένα εξαιρετικά εκπληκτικό εύρημα και η βάση κυτταρικών και νευρωνικών κυκλωμάτων είναι αρκετά μυστηριώδης. Συνολικά, εκτός από

την αναγνώριση της αναστολής HDAC ως πιθανού νέου θεραπευτικού στόχου σε νευροεκφυλιστικές διαταραχές, τα ευρήματα αυτά συμπληρώνουν μια αναδυόμενη βιβλιογραφία που υποδηλώνει σημαντικό ρόλο για τους επιγενετικούς μοριακούς μηχανισμούς στη λειτουργία μνήμης.

3.2 Επιγενετική και νευροεκφυλιστικά νοσήματα

Μια δεκαετία έχει περάσει από την ολοκλήρωση του έργου του ανθρώπινου γονιδιώματος (84), ωστόσο τα μυστήρια των νευροεκφυλιστικών ασθενειών παραμένουν σε μεγάλο βαθμό ανεπίλυτα. Οι προσπάθειες που αποσκοπούν στην αποσαφήνιση της προέλευσης των οικογενειών και των σποραδικών μορφών νευροεκφυλιστικών ασθενειών, συμπεριλαμβανομένης της θέσης κλωνοποίησης, της συσχέτισης με το γονιδίωμα και των κλινικών μελετών, έχουν εντοπίσει ορισμένα γονίδια που προκαλούν νόσο και μερικοί γενετικοί παράγοντες κινδύνου σχετιζόμενοι με τη νόσο και με ποικίλα αλλά συνήθως μικρά μεγέθη επιπτώσεων (59). Ωστόσο, δεν έχει προκύψει γενετική βάση για τις πιο κοινές μορφές της πλειοψηφίας αυτών των ασθενειών, γεγονός που υποδηλώνει ότι είναι απαραίτητες συμπληρωματικές και εναλλακτικές στρατηγικές για τη διερεύνηση των βάσεων αυτών των διαταραχών. Μεταξύ αυτών των μεταβαλλόμενων παραδειγμάτων οι προσπάθειες επικεντρώνονται στη μελέτη του ρόλου της επιγενετικής στη μοριακή παθοφυσιολογία των νευροεκφυλιστικών ασθενειών. Πρόσφατες μελέτες έχουν εμπλέξει δυναμικές κυτταρικές και ιστοειδικές επιγενετικές διεργασίες στη ρύθμιση της γενωμικής δομής και λειτουργίας κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, της ζωής των ενηλίκων και της γήρανσης, συμπεριλαμβανομένης της μεσολάβησης της γονιδιακής έκφρασης και των αλληλεπιδράσεων γονιδίου-γονιδίου και περιβάλλοντος-γονιδίου, τις χημικές εκθέσεις, των συμπεριφορικών και κοινωνικών παραγόντων (103). Επισκοπούμε αυτούς τους ξεχωριστούς αλλά πολύ συντονισμένους μηχανισμούς, οι οποίοι περιλαμβάνουν τη μεθυλίωση του DNA, τις τροποποιήσεις των ιστονών και την αναδιαμόρφωση της χρωματίνης και τη ρύθμιση του μη κωδικοποιητικού RNA (ncRNA). Τα γενετικά ή επίκτητα ελαττώματα στο επιγενετικό μηχανισμό ή / και η συσσώρευση επιγενετικών «αλλοιώσεων» καθ' όλη τη διάρκεια ζωής οδηγούν σε λεπτές αλλαγές στην έκφραση και τη λειτουργία των επιμέρους γονιδίων και των γονιδιακών δικτύων που μειώνουν την κυτταρική φαινοτυπική πλαστικότητα - την ικανότητα να ανταποκρίνονται κατάλληλα σε ενδοκυτταρικά και περιβαλλοντικά ερεθίσματα αυξάνοντας την κυτταρική ευπάθεια σε τραυματισμό και θάνατο (53). Οι αναδυόμενες

παρατηρήσεις έχουν, πράγματι, αποκαλύψει ότι η επιγενετική δυσλειτουργία είναι ένα από τα χαρακτηριστικά γνωρίσματα σύνθετων νοσηρών καταστάσεων, όπως ο καρκίνος (13), η αυτοανοσία (101) και νευροεκφυλισμό (103). Έτσι, δίνουμε έμφαση σε πρόσφατα στοιχεία που αποδεικνύουν τις διασυνδεδεμένες σχέσεις που υπάρχουν μεταξύ των επιγενετικών διεργασιών και των γονιδίων που προκαλούν νευροεκφυλιστικά νοσήματα και των σχετικών παθογόνων μηχανισμών καθώς και των πολυστρωματικών προφίλ επιγενετικής δυσλειτουργίας που έχουν βρεθεί σε νευροεκφυλιστικές ασθένειες. Η μελέτη δυναμικών επιγενετικών μηχανισμών που μπορούν να δράσουν με τρόπο κυτταρικό και ιστικό δεν είναι ασήμαντη και δεν έχουν διεξαχθεί μελέτες ευρείας κλίμακας για επιγενετικές νευροεκφυλιστικές νόσους. Παρόλα αυτά, καινοτόμες μέθοδοι και τεχνολογίες, όπως αυτές που αξιοποιούν τις πλατφόρμες αλληλουχίας επόμενης γενιάς, μειώνουν τους επιχειρησιακούς και οικονομικούς φραγμούς στον ορισμό των επιγενετικών προτύπων που σχετίζονται με την νευροεκφυλιστική ασθένεια. Θεωρούμε παραδείγματα αυτών των εργαλείων και τεχνικών, τα οποία έχουν τη δυνατότητα όχι μόνο για την αποκάλυψη μηχανισμών νευροεκφυλιστικών ασθενειών αλλά και για την πρόοδο στο κλινικό πεδίο, προωθώντας την έγκαιρη διάγνωση και την ανάπτυξη εξατομικευμένων στρατηγικών πρόληψης και θεραπείας. (10, 83, 153)

Παρακάτω θα αναλυθεί η επιγενετική της νόσου Huntington και η σχέση μεταξύ των επιγενετικών και μεταγραφικών αλλαγών στην ασθένεια του αυτήν.

Η νόσος του Huntington είναι μια νευροεκφυλιστική ασθένεια που προκαλείται από μια ασταθή διογκωμένη επαναλαμβανόμενη CAG (> 35-39 επαναλήψεις) στο γονίδιο Huntingtin (HTT), η οποία οδηγεί στην παραγωγή μεταλλαγμένης πρωτεΐνης (mHtt) με μια τοξική πολυγλουταμίνηκη (polyQ) οδό (85). Το HD χαρακτηρίζεται από συγκεκριμένα συμπτώματα, όπως η κινητική δυσλειτουργία (π.χ. χορεία, βραδυκίνηση, ανωμαλίες στο βάδισμα, δυστονία), γνωστικές ασθένειες (προβλήματα κινητικής δεξιότητας, προγραμματισμός και προβλήματα προσοχής) και ψυχιατρικές αλλοιώσεις (κατάθλιψη, μανία, απάθεια, αυτοκτονία) που συνήθως εμφανίζονται στην ενηλικίωση (129). Δεδομένου ότι η τοξικότητα λόγω διεύρυνσης πολυοξυαιθυλενίου συσχετίζεται με το μέγεθος επανάληψης, οι ασθενείς με HD με μεγαλύτερης έκτασης CAG είναι πιο σοβαρά εμφανισμένοι, παρουσιάζοντας συχνότερα συμπτώματα και ταχεία εξέλιξη της παθολογίας. Το HD χαρακτηρίζεται από έναν προτιμησιακό και πρωταρχικό εκφυλισμό δύο δομών των βασικών γαγγλίων: τον πυρήνα που έχει ουρά και τους κηλιδωτούς που σχηματίζουν το νεοστοιτισμό. Εντούτοις, οι επιπρόσθετες περιοχές του εγκεφάλου, ιδιαίτερα ο φλοιός,

εκφυλίζονται ως παθολογικά εξελισσόμενος (130). Είναι αξιοσημείωτο ότι, σε HD ραβδωτό σώμα, οι εκλεκτικοί νευρωνικοί πληθυσμοί, το GABAergic MSN, είναι πιο ευάλωτοι, επειδή οι μεγάλες χολινεργικές πρωτεΐνες, τα γονατογόνα και τα γλοιακά κύτταρα (54). Από βιοχημική άποψη, το polyQ-Htt παρουσιάζει μεγάλη συσχέτιση μεταξύ των συσσωματωμάτων και των συσσωματωμάτων των πυρηνικών εγκλεισμάτων, ιδιαίτερα στους νευρώνες (45). Αυτά τα συσσωματώματα, ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα ασθeneίας, προσλαμβάνουν έναν αριθμό πρωτεϊνών, συμπεριλαμβανομένων των ρυθμιστών μεταγραφής (Stefan et al., 9).

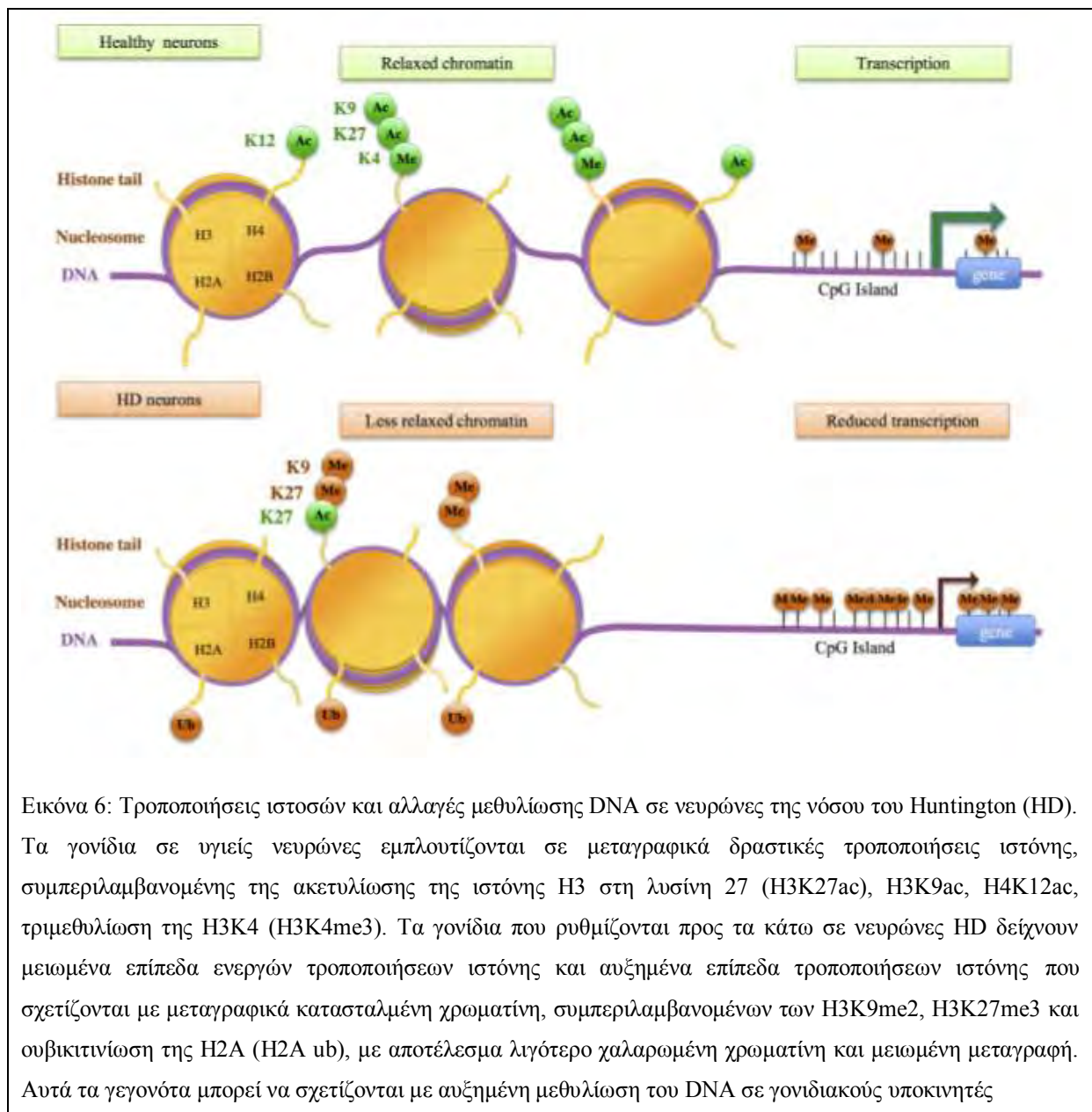
Σχέση μεταξύ των επιγενετικών και μεταγραφικών αλλαγών στην ασθένεια του Huntington.

Ακετυλίωση ιστόνης

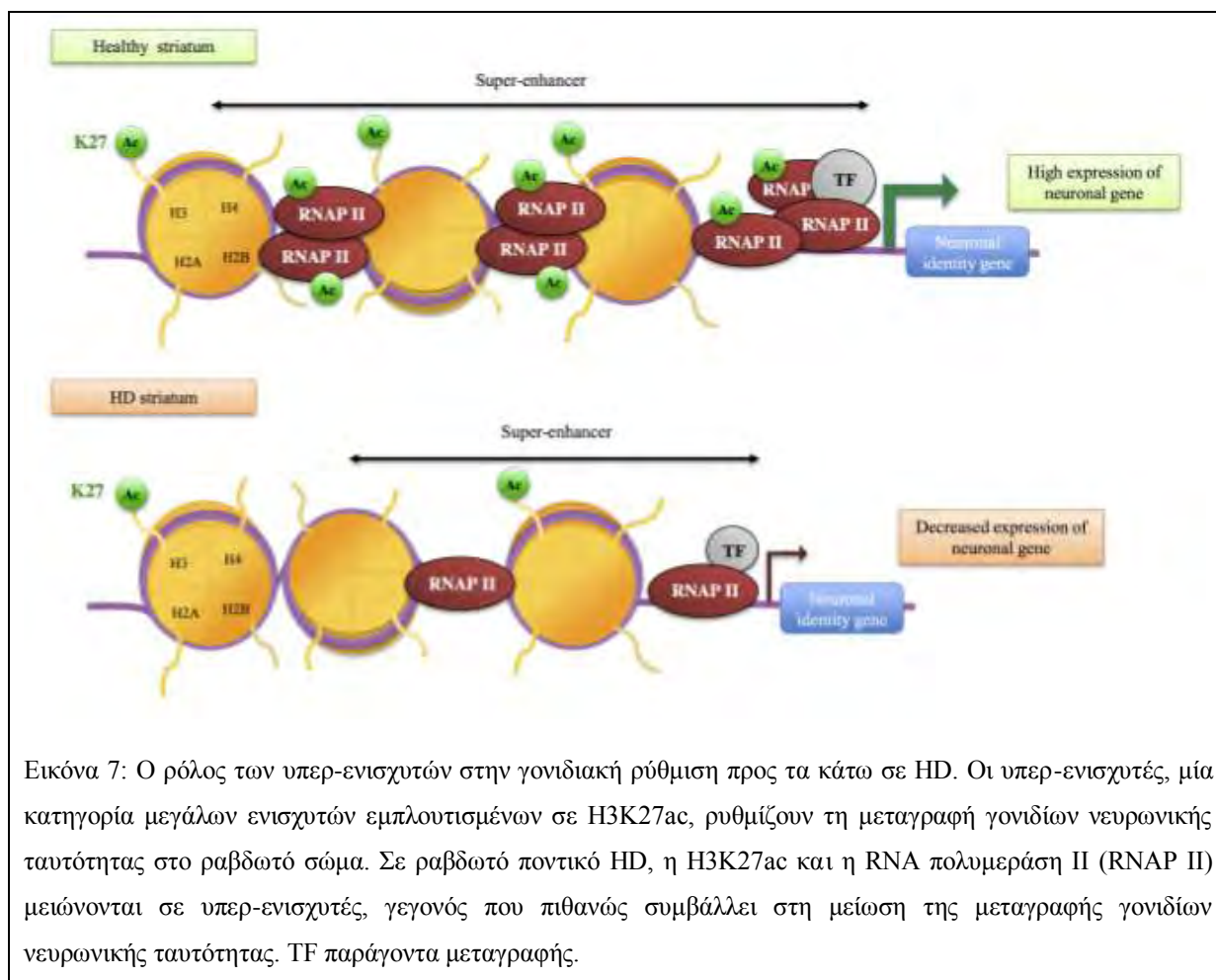
Εκτεταμένες μεταβολές στα επίπεδα ακετυλίωσης ιστόνης παρατηρήθηκαν σε κυτταρικά συστήματα βασισμένα στην υπερέκφραση μεταλλαγμένου Htt (147, Igarashi et al., 2003). Ωστόσο, τα καθολικά επίπεδα ακετυλίωσης H2B, H3 και H4 εμφανίστηκαν αμετάβλητα μεταξύ ιστών εγκεφάλου HDR6 / 2 και ποντικών ελέγχου (68, 135). Μελέτες που χρησιμοποιούν το ραβδωτό σωματίο HD σε ποντίκια υποδεικνύουν περαιτέρω ότι η μειωμένη ακετυλίωση του H3 λαμβάνει χώρα σε εκλεκτικούς γονιδιακούς τύπους, ιδιαίτερα σε υποκινητές γονιδίων που μειώνουν την έκφραση όπως Drd2, Penk1, Actb ή Grin1 (135). Χρησιμοποιώντας ανοσοκατακρήμνιση χρωματίνης σε συνδυασμό με υβριδισμό μικροσυστοιχιών (chip Chip), (99) αξιολόγησαν τις αλλαγές ακετυλίωσης ιστόνης σε κλίμακα σε γενωμικό επίπεδο στο ραβδωτό σώμα των διαγονιδιακών ποντικών HD R6 / 2. Οι ακετυλιώσεις H3K9 και H3K14 (H3K9,14ac) και οι μεταγραφικές μεταβολές μεταξύ του ραβδωτού HD και WT συσχετίστηκαν ελάχιστα στο ραβδωτό σώμα ποντικών HDR6 / 2, υποδηλώνοντας ότι η διακύμανση των επιπέδων H3K9,14ac μόνο, μπορεί να μην επαρκεί για να ληφθούν υπόψη μεταβολές γονιδιακής έκφρασης HD ποντίκια. (162) κατέληξε σε παρόμοια συμπεράσματα με τη διερεύνηση των μεταβολών στα H3K9,14 ac και H4K12ac χρησιμοποιώντας μια πιο ισχυρή μέθοδο -ChIPseq- στον υπόκαμπο και την παρεγκεφαλίδα

του HD διαγονιδιακού μοντέλου ποντικού N171-82Q (Εικόνα 6). Ωστόσο, ενώ τα δεδομένα που λαμβάνονται από τους McFarland et al. (2012) υποδεικνύουν ευρείες αλλαγές στην ακετυλίωση της ιστόνης σε ραβδωτό ποντίκι HD σε σύγκριση με το ραβδωτό WT, τα αποτελέσματα που αναφέρθηκαν από τους Valor et al. (2013) δείχνουν ότι οι αλλαγές περιορίζονται σε λίγους τύπους. Η απουσία χονδρικών αλλαγών στην ακετυλίωση της ιστόνης υποστηρίζεται περαιτέρω από μια μελέτη που δείχνει αποακετυλίωση του προαγωγέα H3 σε συγκεκριμένους τύπους σε HD μοντέλα (66). Το H3K27ac, ένα σημάδι ενεργών ενισχυτών, επίσης επιλεκτικά μειώθηκε στο ραβδωτό σώμα ποντικών HDR6 / 1 (2) (Εικόνα 6).

Η ενσωμάτωση της H3K27ac ChIPseq με δεδομένα RIP πολυμεράσης II (RNAPII) ChIPseq και RNAseq (2) έδειξαν ότι τα H3K27ac και RNAPII μειώνονται σε περιοχές εμπλουτισμένες σε ρυθμιστικά γονίδια, παρέχοντας ένδειξη για ισχυρή συσχέτιση μεταξύ μειωμένης H3K27ac, μειωμένης RNAPII και χαμηλότερης ρύθμισης γονιδίου σε ραβδωτό ποντικό HD. Επιπλέον, οι ενισχυτικές περιοχές που παρουσιάζουν μειωμένη H3K27ac σε ραβδωτό HD R6 / 1 εμπλουτίστηκαν σε υπερ-ενισχυτές, μια κατηγορία φαρυδιών ενισχυτών, που ρυθμίζουν γονίδια που καθορίζουν την ταυτότητα και τη λειτουργία συγκεκριμένου κυτταρικού τύπου (Εικόνα 7). Στην πραγματικότητα, τα ραβδωτά γονίδια υπερ-ενίσχυσης που ρυθμίζονται προς τα κάτω σε ραβδωτό ποντικό HD εμπλουτίστηκαν σε γονίδια που ελέγχουν τη νευρωνική δραστηριότητα, συμπεριλαμβανομένης της νευρωνικής πλαστικότητας και της μετάδοσης (2). Έτσι, τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η επιλεκτική μείωση της δραστηριότητας υπεραντιδραστήριου βρίσκονται κάτω από το νευρωνικό μεταγραφικό πρότυπο του HD (π.χ., ρύθμιση προς τα κάτω των γονιδίων που ορίζουν νευρωνική ταυτότητα και λειτουργία, που στη συνέχεια αναφέρονται ως γονίδια νευρωνικής ταυτότητας). Αυτό υποστηρίζει μια επιγενετική προέλευση της κατάργησης των γονιδίων του HD.



Εικόνα 6: Τροποποιήσεις ιστοσών και αλλαγές μεθυλίωσης DNA σε νευρώνες της νόσου του Huntington (HD). Τα γονίδια σε υγιείς νευρώνες εμπλουτίζονται σε μεταγραφικά δραστικές τροποποιήσεις ιστόνης, συμπεριλαμβανομένης της ακετυλίωσης της ιστόνης H3 στη λυσίνη 27 (H3K27ac), H3K9ac, H4K12ac, τριμεθυλίωση της H3K4 (H3K4me3). Τα γονίδια που ρυθμίζονται προς τα κάτω σε νευρώνες HD δείχνουν μειωμένα επίπεδα ενεργών τροποποιήσεων ιστόνης και αυξημένα επίπεδα τροποποιήσεων ιστόνης που σχετίζονται με μεταγραφικά κατασταλμένη χρωματίνη, συμπεριλαμβανομένων των H3K9me2, H3K27me3 και ουβικιτινίωσης της H2A (H2A ub), με αποτέλεσμα λιγότερο χαλαρωμένη χρωματίνη και μειωμένη μεταγραφή. Αυτά τα γεγονότα μπορεί να σχετίζονται με αυξημένη μεθυλίωση του DNA σε γονιδιακούς υποκινητές



Άλλες τροποποιήσεις ιστόνης

Τα παραπάνω αποτελέσματα υποστηρίζουν την άποψη ότι τα συγκεκριμένα ρυθμιστικά στοιχεία, υπερ-ενισχυτές, είναι ευαίσθητα στη μετάλλαξη HD. Πρόσφατα, υποδείχθηκε ότι οι επιλεκτικοί προαγωγείς έχουν αποδειχθεί ότι είναι ο σημαντικότερος παράγοντας στους ποντικούς HDR6 / 2 βρέθηκαν να συνδέονται κατά προτίμηση με ευρείς προωθητές, ρυθμίζοντας γονίδια εμπλουτισμένα σε βιολογικές διεργασίες που συνδέονται με νευρωνική λειτουργία (163) . Επιπλέον, η H3K4me3 φαίνεται να έχει μειωθεί στα down-regulated γονίδια σε R6 / 2 έναντι WT ιστού (Εικόνα 6). Έτσι, αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο συγκεκριμένος μακρύς υποκινητής συσχετίζεται με μειωμένη έκφραση των νευρωνικών γονιδίων στο ραβδωτό σώμα και τον φλοιό των HD ποντικών. Είναι πολύ πιθανό ότι τα στοχευόμενα γονίδια μακρών υποκινητών και υπερ-ενισχυτών στους ιστούς του εγκεφάλου επικαλύπτονται και εμπλουτίζονται με γονίδια νευρωνικής ταυτότητας. Επιπλέον, σε μια μελέτη που χρησιμοποίησε ChIPseq σε εμβρυικά βλαστοκύτταρα (ESC) και νευρωνικά προγονικά κύτταρα (NPC) που εκφράζουν μεταλλαγμένο Htt με διάφορα CAG μεγέθη,

αναφέρθηκε συσχέτιση μεταξύ CAG-επαναλαμβανόμενων μεταβολών στην γονιδιακή έκφραση και σε επίπεδα H3K4me3, NSC (14). Αυτό εγείρει την υπόθεση ότι το μεταλλαγμένο Htt μπορεί να μεταβάλλει την επιγενετική ρύθμιση σε πρώιμο στάδιο νευρωνικής διαφοροποίησης. Τέλος, η H3K4me3 έχει διερευνηθεί στον προμετωπιαίο φλοιό των ασθενών με HD χρησιμοποιώντας ChIPseq (12, 46). Σε αντίθεση με τα δεδομένα του ποντικού, τα ανθρώπινα δεδομένα υποδεικνύουν ότι οι επιγενετικές και οι μεταγραφικές μεταβολές σε HD έναντι των ιστών ελέγχου είναι ανεπαρκώς συσχετισμένες (11, 46). Ωστόσο, στα ανθρώπινα πειράματα, το βάθος της αλληλουχίας φαίνεται να είναι τελείως άριστο, το οποίο μπορεί να είχε ως αποτέλεσμα την υποεκτίμηση των σημάτων H3K4me3. Ενδιαφέρον όμως είναι ότι η μελέτη των Dong et al. (2015) υποδεικνύει ότι οι υποκινητές που εμπλουτίζονται διαφορετικά με το H3K4me3 συσχετίζονται με γονίδια που εμπλέκονται σε οδούς ή δίκτυα που συνδέονται με νευρωνική δραστηριότητα και φλεγμονή, υποδηλώνοντας ότι οι μεταγραφικές αλλαγές που επηρεάζουν τα φλεγμονώδη γονίδια, επιπλέον αυτών που επηρεάζουν τα νευρωνικά γονίδια, περιλαμβάνουν επιγενετικούς μηχανισμούς. Η υπόθεση ότι η επαγωγή φλεγμονωδών γονιδίων σε νευρωνικούς ιστούς HD συσχετίζεται με απώλεια ταυτότητας γλοιακών κυττάρων θα πρέπει να διερευνηθεί (58).

Επιπρόσθετες επιγενετικές τροποποιήσεις σε ρυθμιστικές περιοχές ενδέχεται επίσης να είναι μειωμένες. Τα αυξημένα επίπεδα H3K9me2, ένα σημάδι που σχετίζεται με την ετεροχρωματίνη, έχουν αναφερθεί στο ραβδωτό σώμα των ασθενών με HD και των R6 / 2 ποντικών, χρησιμοποιώντας ανοσοϊστολογικές αναλύσεις (134). Το εάν συγκεκριμένοι τόποι είναι πιο ιδιαίτερα ευαίσθητοι στην αυξημένη μεθυλίωση του H3K9 σε μοντέλα HD δεν έχει ακόμη διερευνηθεί χρησιμοποιώντας προσεγγίσεις σε επίπεδο γονιδιώματος. Επιπλέον, το επίπεδο της H3K27me3, μιας κατασταλτικής τροποποίησης ιστόνης που μπορεί να σηματοδοτήσει τον υποκινητή και τους ενισχυτές, διαμορφώθηκε με το μέγεθος επαναλήψεως CAG τόσο σε ESC όσο και σε NPC (139). Ωστόσο, οι μεταγραφικές συνέπειες αυτού του γεγονότος ήταν ασαφείς. Τέλος, διαπιστώθηκε ότι η ουσιαστική τυλίωση της H2A (H2Aub) αυξήθηκε στα downregulated γονίδια σε ποντίκια HD R6 / 2 (81) και η ανάλυση ChIPon-τσιπ των μεταβολών H2Aub σε ραβδωτό R6 / 2 έδειξε ότι οι μεταβολές της ιστόνης δεν περιορίζονταν σε δυσρυθμισμένα γονίδια (99).

Μεθυλίωση του DNA

Διεξήχθη γενική ανάλυση της μεθυλίωσης του DNA σε μοντέλα κυττάρων HD (114). Μεταβολές στη μεθυλίωση του DNA σε απόκριση σε μεταλλαγμένο Htt παρατηρήθηκαν

τόσο σε εγγύς όσο και σε απομακρυσμένες ρυθμιστικές περιοχές προαγωγέα. Είναι ενδιαφέρον ότι ένα μεγάλο ποσοστό των γονιδίων που άλλαξαν στην έκφραση μετά την μεταλλαγμένη έκφραση Htt εμφάνισαν αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA, υποδηλώνοντας μια αιτιώδη σχέση. Η μεθυλίωση του DNA επίσης παρουσιάστηκε με χρήση μεταθανάτιου φλοιού και ήπατος από ασθενείς με HD (42). Τα αποτελέσματα αποκάλυψαν ελάχιστες ενδείξεις HD-σχετικής μεθυλίωσης του DNA. Εντούτοις, το γονίδιο HTT μεθυλιώθηκε με έναν ειδικό για τον ιστό τρόπο, ο οποίος μπορεί να οδηγήσει σε ειδική για τον ιστό ρύθμιση της δραστηριότητας του προαγωγέα του HTT. Επιπλέον, η 5-υδροξυμεθυλοκυτοσίνη (5-hmC) και η 7-μεθυλογουανίνη (7-MG) μειώθηκαν παγκοσμίως σε ιστούς εγκεφάλου των μοντέλων ποντικού HD, συμπεριλαμβανομένων των ποντικών YAC128 (μελέτη 5-hmC), R6 / 2 και CAG140 ποντικοί knockin -MG μελέτη) (Thomas et al., 2013, Wang κ.ά., 2013). Ενώ αυτές οι μελέτες παρέχουν περαιτέρω στοιχεία για αλλοιωμένη μεθυλίωση του DNA σε ιστούς εγκεφάλου HD, οι μεταγραφικές συνέπειες τέτοιων διαταραχών παραμένουν ασαφείς. Η ανάλυση της μεθυλίωσης του DNA έχει επίσης χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση του επιγενετικού ρολογιού των ασθενών με HD (70). Ο Horvath ανέπτυξε πρόσφατα ένα επιγενετικό μέτρο της ηλικίας των ιστών, επονομαζόμενη επιγενετική ηλικία, υπολογιζόμενη από τα επίπεδα μεθυλίωσης του DNA σε 353 θέσεις CpG (70). Η μελέτη που χρησιμοποιεί ιστούς εγκεφάλου από ασθενείς με HD έδειξε επιταχυνόμενη επιγενετική γήρανση σε εγκέφαλο HD, ιδιαίτερα σε φλοιώδεις ιστούς. Ωστόσο, αυτό δεν συνέβαινε για τους ιστούς του ραβδωτού σώματος, πιθανώς λόγω υπερβολικής νευρωνικής απώλειας (70). Ενώ η μεταγραφική σημασία της επιταχυνόμενης γήρανσης στον εγκέφαλο HD είναι ασαφής, τα δεδομένα μπορεί να αποκαλύψουν μια εξαρτώμενη από την ηλικία μεταβολή της επιγενετικής ρύθμισης. Τέλος, η θεραπεία HD ποντικών με τον HDAC αναστολέα HDACi 4b οδήγησε σε διαγονιδιακές επιδράσεις, πιθανώς μεσολαβούμενες από αυξημένη μεθυλίωση του DNA σε θέσεις CpG που σχετίζονται με Kdm5d (Jia et al., 2015). Έτσι, η μεθυλίωση του DNA μπορεί να αποτελέσει θεραπευτικό στόχο για το HD. Οι επιγενετικές τροποποιήσεις του γονιδιώματος, όπως η μεθυλίωση του DNA και οι τροποποιήσεις των ιστονών, παίζουν ρόλο σε νευροεκφυλιστικές νόσους (ND) όπως η νόσος του Alzheimer (AD) και η νόσος του Parkinson (PD).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η παρακάτω ανασκόπηση στην οποία συμπεριλήφθηκαν 11453 άτομα, με συνολικά 2640 για AD και 2368 PD αποτελέσματα. Από τις 73 μη επαναλαμβανόμενες μελέτες που περιλήφθηκαν, 13 μελέτες αξιολόγησαν την παγκόσμια μεθυλίωση του DNA, 45 μελέτες αξιολόγησαν τη μεθυλίωση του DNA σε συγκεκριμένα

υποψήφια γονίδια, 8 μελέτες χρησιμοποίησαν προσεγγίσεις σε επίπεδο γονιδιώματος, 1 μελέτη αξιολόγησε τόσο τη γενική μεθυλίωση του DNA, τις μεταβολές των ιστονών και τη μεθυλίωση του DNA σε συγκεκριμένα υποψήφια γονίδια, Και 6 μελέτες εξέτασαν τροποποιήσεις ιστόνης σε σχέση με τον ND (Πίνακες 1-3). Είκοσι εννέα μελέτες αξιολόγησαν τη μεθυλίωση του DNA και / ή τις τροποποιήσεις της ιστόνης μόνο στο αίμα, 35 στον εγκεφαλικό ιστό, 8 μελέτες σε αίμα και εγκεφαλικό ιστό και 1 μελέτη αξιολόγησε τη μεθυλίωση σε ινοβλάστες δέρματος. Πενήντα επτά μελέτες εξέτασαν τη AD ως αποτέλεσμα, ενώ 18 μελέτες εξέτασαν το PD. Είκοσι τέσσερις μελέτες περιλάμβαναν συμμετέχοντες από τις ΗΠΑ, 11 μελέτες από την Κίνα, 4 μελέτες που περιλάμβαναν συμμετέχοντες από περισσότερες από μία χώρες και οι υπόλοιποι συμμετέχοντες αποκλειστικά από τον Καναδά, τη Γερμανία, το Ηνωμένο Βασίλειο, την Ιταλία, την Ισπανία, την Ιαπωνία, τη Σουηδία, την Κολομβία, Ζηλανδία, Σερβία ή Βραζιλία (πίνακες 1-3). Τρεις μελέτες κρίθηκαν με χαμηλό κίνδυνο μεροληψίας, ενώ οι υπόλοιποι ήταν μεσαίου και υψηλού κινδύνου μεροληψίας.

Πίνακας 1. Γενική μεθυλίωση του DNA στη ασθένεια του Alzheimer και του Parkinson

(Research Article: The Role of DNA Methylation and Histone Modifications in Neurodegenerative Diseases: A Systematic Review)

Author	Population	No of cases	Tissue	Adjustment	Association	Comment
ALZHEIMER'S DISEASE						
5mdC						
Mastroeni D. et al, 2010 [33]	USA, n = 40, 60-97 years, M and W	20	Human post-mortem brain tissue (neurons of entorhinal cortex layer II and other regions- cerebellum)		Inverse association	Methylation levels were decreased in AD cases compared to controls (91.3% ± 1.3 in non-AD cases and 39.9% ± 3.4%, P<0.0001). No difference in methylation frequency in other regions of the brain such as the cerebellum.
Chouliaras L. et al, 2013 [29]	USA, n = 20 and one pair of monozygotic twins discordant for AD), 76.64 ± 4.9 years, M and W	10	Hippocampal tissue	Age and gender	Inverse association	Decreased 5-mC and 5-hmC immunoreactivity in AD hippocampus (-19.6%, p = 0.006 and -20.2%, p = 0.012). Decreased level of 5-mC immunoreactivity in glial cells in the CA3 and CA1 region of the hippocampus (-26.9%, p = 0.016 and -25.7%, p = 0.003 respectively) as well as in the neurons of the CA1 region (-21.1%, p = 0.01). No differences in DG or CA3 neurons. Decreased level of 5-hmC immunoreactivity in cells of the DG and glial cells of the CA3 (-16.1%, p = 0.042 and -34.2%, p = 0.011 respectively).
Condliffe D. et al, 2014 [30]	UK, n = 21, 78.18 ± 2.02 years, M and W	13	Cortical and cerebellar tissue	Age and gender	Inverse association	Significant decrease in 5-hmC in AD compared to controls (EC p<0.001, CER p = 0.0476). No differences found in 5-mC levels between AD and controls, nor between brain regions. No estimates given.
Lashley T. et al, 2014 [31]	UK, n = 26, 71.8 ± 4.2 years, M and W	12	Brain tissue (entorhinal cortex and cerebellum)		No association	No significant differences detected between AD and control cases in either 5mC or 5hmC staining (both in immuno-histochemical analysis and ELISA).
Coppieters N. et al, 2014 [33]	New Zealand, n = 58, 75.35 ± 8.2 years, M and W	29	Cortical tissue: In middle frontal gyrus (MFG) and middle temporal gyrus (MTG)	Age at death and post-mortem delay matched	Positive association	Significant increase in global levels (integrated intensity per cell) of 5mC (p = 0.0304) and 5hmC (p = 0.0016) in MFG of AD cases compared to controls. Significant increase of 5mC (p<0.0001) and 5hmC (p<0.0001) each in MTG of AD cases compared to controls.
Rao J.S. et al, 2012 [34]	USA, n = 20, 76.4 ± 2.4, Gender not specified	10	Post-mortem frontal cortex (Brodmann area 9)		Positive association	The AD brains showed significant increases in global DNA methylation compared to age-matched controls.
Bednarska-Makanuk M. et al, 2016 [32]	Poland, 194, 71.1 ± 7.56, M and W	53	PB	Age	No association	No significant differences detected between AD and control cases.
5hmeC (5-hydroxymethylation)						
Mastroeni D. et al, 2016 [35]	USA, n = 12, 79-96, M and W	N = 6	Sub ventricular zone	Age	Positive association	There was an increase in DNA hydroxymethylation levels in AD compared to age-matched controls.

(Continued)

Author	Population	No of cases	Tissue	Adjustment	Association	Comment
LINE-1 methylation						
Bollati V. et al, 2011[16]	Italy, n = 81, 71.2 ± 8.3 years, M and W	43	PB	Age and gender	Positive association	LINE-1 methylation was significantly increased in AD patients compared to controls (83.6% vs. 83.1 p = 0.04).
HernandezH. et al, 2014 [36]	Columbia, n = 58, 76.2 ± 11.7 years, M and W	28	PBMCs	Age and gender	No association	No significant difference in median LINE-1 methylation levels between AD group and control group. There was also no difference between the groups when men and women were compared separately. There was also no difference seen when stratified for APOE-ε4 carrier status.
ALU						
Bollati V. et al, 2011[16]	Italy, n = 81, 71.2 ± 8.3 years, M and W	43	PB	Age and gender	No difference	No difference.
HpaII/MspI ratio						
Shwab NG. et al, 1990[39]	Canada, n = 64, 45–92 years, M and W	44	Human post-mortem brain tissue (frontal cortex)		No difference	No difference in DNA methylation level between cases and controls (54.1 ± 2.26% vs. 52.9 ± 1.79%).
Basile AM. et. al, 1997[37]	Italy		Lymphocytes		Positive association	DNA hypermethylation characterized the AD individuals.
LUMA						
DiFrancesco A. et al, 2015 [38]	Italy, n = 81, 79.5 ± 6.33 years, M and W	37	PBMCs		Positive association	Global DNA methylation levels were significantly increased in patients with LOAD compared to controls (p = 0.0122).
H2						
Anderson KW. et al, 2015 [60]	USA, n = 16, 72–92.1 years old, M and F	6	Post-mortem frontal cortex		No difference	No difference in isoforms K/R99 or without K/R99
H3						
Zhang K. et al, 2012[70]	USA, n = 15, 54–101 years, M and W	11	Temporal lobe		Inverse association	Histone H3(H3K18/ K23) acetylation in AD cases was lower than in controls (six fold and p<0.02). This study also showed that SRM-based targeted proteomics, compared to western blot method and LC-MS/MS-TMT, showed higher throughput and therefore promises to be more suitable for clinical applications.
Rao JS. et al, 2012 [34]	USA, n = 20, 70.4 ± 2.4, Gender not specified	10	Post-mortem frontal cortex (Brodmann area 9)		Positive and no association	H3 phosphorylation was increased in AD brains compared to age-matched controls. No difference was observed in H3 acetylation.
Anderson KW. et al, 2015 [60]	USA, n = 16, 72–92.1 years old, M and W	6	Post-mortem frontal cortex		No difference	K4- and K9-acetylated H3 did not show statistically significant changes between AD and control
Author	Population	No of cases	Tissue	Adjustment	Association	Comment
Naryan P.J. et al, 2015[81]	New Zealand, n = 67, 75.4 ± 9.2, M and W	29	Post-mortem inferior temporal gyrus		Positive association	Acetyl histone H3 and acetyl histone H4 levels, as well as total histone H3 and total histone H4 protein levels, were significantly increased in post-mortem Alzheimer's disease brain tissue compared to age- and sex-matched neurologically normal control brain tissue. The increase in acetyl histone H3 and H4 was observed in Neuronal N immunopositive pyramidal neurons in Alzheimer's disease brain.
H4						
Anderson KW. et al, 2015 [60]	USA, n = 16, 72–92.1 years old, M and W	6	Post-mortem frontal cortex		Positive and no difference	K8-, K12- and K16-acetylated H4 did not show statistically significant changes between AD and control. However, there was a 25% increase in K12- and K-16 acetylated H4.
Plagg B. et al, 2015[82]	Austria, n = 80, age and sex not defined	34	Monocytes		No difference	No difference in H4K12 acetylation was observed between AD patients and controls.
PARKINSON'S DISEASE						
LINE-1 methylation						
Nielsen SS. et al, 2012[40]	USA (n = 693), 66.7 ± 9.5 years, M and W	292	PBMCs	Age, sex and smoking	No association	No association was observed between LINE-1 methylation and the presence of PD (p>0.40).
Histone modifications						
Gebremedhin KG. et al, 2016[84]	USA, n = 17, 71–87 years, M and W	9	Primary motor cortex		Positive and no difference	There was net increase in histone H3 acetylation due to increased H3K14 and H3K18 acetylation. There was a decrease in H3K9 acetylation. No between-groups difference was detected in H3K23 acetylation
Park G. et al, 2016[83]	USA, n = 10, 67.8–79.2 years, M and W	5	Postmortem midbrain tissues	Age and sex	Positive	Levels of histone acetylation (H2Ak5, H2Bk15, H3k9, and H4k5) are markedly higher in midbrain dopaminergic neurons of PD patients compared to those of their matched control individuals.

Πίνακας 2. Ειδική μεθυλίωση γονιδίων στη νόσο Alzheimer: προσεγγίσεις γονιδίων και γονιδιώματος. (Research Article: The Role of DNA Methylation and Histone Modifications in Neurodegenerative Diseases: A Systematic Review)

Author	Study design	Population/Age range/Follow-up	Cases	Tissue type	Methylation sites/methods	Adjustments	Main finding
Candidate gene approach							
An S. et al, 1994[135]	CCS/ Comparison of skin fibroblasts of AD and age/ sex-matched controls	N = 4* Age and sex unspecified	N = 2	Skin fibroblasts	2-5A synthetase gene/ Methylation-sensitive restriction enzymes (HpaII).		Hypo-methylation
Arosio B. et al, 2012[136]	CCS/Comparison of subjects with late onset AD (LOAD) and age-matched controls	Italy, n = 60, 79.7 ± 6.3 years, M and W	N = 32	PBMCs	<i>PIN1</i> gene promoter region/ bisulphite labelled RT-PCR		Hypo-methylation
Bajic V. et al, 2014[137]	CCS/ Comparison of female AD patients and healthy age-matched controls	Serbia, n = 20, 68.1 ± 6.5 years, W	N = 10	PBMCs	Androgen receptor promoter (as a measure of X-inactivation pattern)/ MethySYBR Assay		Hyper-methylation
Banzhaf-Strathmann J. et al, 2013[53]	CCS/ Comparison between AD patients and age-matched neurologically healthy controls.	Multiple countries, n = 51, 70.5 ± 7.7 years, M and W.	N = 8	Human post-mortem brain tissue (frontal cortex)	<i>GRN</i> promoter/ Sequenom MassARRAY platform		No difference
Barrachina M. et al, 2009[53]	CCS/ Comparison of AD (different stages) and controls.	European Brain Bank network (BrainNet Europe II), N = 70, 73.1 ± 10.1 years	N = 44	Human post-mortem brain tissue	CpG methylation in <i>MAPT</i> , <i>PSEN1</i> , <i>APP</i> , <i>UCHL1</i> / SEQUENOM (Hamburg, Germany) MassArray System. Other: evaluation of effect of post-mortem delay on methylation analysis; comparison to other pathologies (FTD, PD etc.)		No difference
Brohede J. et al, 2010[51]	CCS	Sweden, n = 6, Five M, one W.	N = 6	Brain tissue (cortical and cerebellar).	12 CpG sites in the amyloid precursor protein gene (<i>APP</i>)/ bisulphite-PCR sequencing by 3100 Genetic analyzer		No difference
Chang L. et al, 2014[44]	CCS/ comparison of AD patients and age- and gender matched controls.	China, n = 106, M and W.	N = 44	PB	<i>BDNF</i> promoter (4 CpG islands) / Pyromark Gold Q24 Reagents (Qiagen)	Age and gender matched	Hyper-methylation
D'addario C. et al, 2012[136]	CCS/ comparison of LOAD cases and age-matched controls	Italy, n = 66, 79.7 ± 7.8 years, M and W	N = 33	PBMCs	Methylation at fatty acid amide hydrolase (<i>FAAH</i>) gene promoter (18 CpG sites)/ methylation-specific primer real-time PCR.	Age matched	Hypo-methylation

(Continued)

Author	Study design	Population/Age range/Follow-up	Cases	Tissue type	Methylation sites/methods	Adjustments	Main finding
DiFrancesco A. et al., 2013[130]	CCS/ comparison of LOAD subjects with age-matched controls	Italy, n = 55, 79.7 ± 6.34 years	N = 27	PBMCs	DNA methylation of ALOX5 promoter	Age-matched controls	Hypo-methylation
Furuya T. et al., 2012[60]	CCS/ AD cases compared to healthy elderly and healthy young controls	Canada, Brain (n = 22), PB (n = 64), 62.9 ± 3.4 years, M and W	Brain: N = 12 Blood: N = 36	Brain (entorhinal cortex, auditory cortex, hippocampus) and PBMCs	SORL1 and SIRT1 gene methylation/ Sequenom EpiTYPER		No difference
Furuya T. et al., 2012[60]	CCS/ AD cases compared to healthy elderly and healthy young controls	Canada, Brain (n = 20), PB (n = 79), 63.5 ± 5.1 years, M and W	Brain: N = 10 Blood: N = 34	Brain (entorhinal cortex, auditory cortex, hippocampus) and PBMCs	SNAP25 gene methylation/ Sequenom EpiTYPER	ApoE4 status	No differences
Grosser C. et al., 2014[52]	CCS/ AD cases compared to controls	Netherlands, n = 10, 77.5 ± 13.3 years, M and W	N = 5	Brain tissue (middle temporal and superior frontal gyrus)	Methylation of SST and SSTRI promoter CpG islands (27 and 44 CpGs)/ Bisulphite RT-PCR sequencing	Age matched	No difference
Hou Y. et al., 2013[49]	CCS/ AD cases compared to controls	China, n = 135, 78.4 ± 13.3 years, M and W	N = 63	PBMCs	CpG islands of SIRT1 (S1 and S11/S112) and amplifiable regions of APP, ApoE4, PS1, PS2 and Tau/ Bisulphite pyrosequencing (EZ DNA methylation Gold Kit)	Age, sex, scholasticity and vascular disease matched	SIRT1: Hyper-methylation APP: Hypo-methylation ApoE4, PS1, PS2 and Tau: No difference
Iwata A. et al., 2014[47]	CCS/ AD cases compared to controls	Japan, n = 158, 77.4 ± 6.1 years	N = 62	Brain tissue (cerebellum, anterior parietal lobe and inferior temporal lobe)	203 CpGs for ACE, APOE, APP, BACE1, GSK3B, MAPT, PSEN1/ Bisulphite pyrosequencing by Pyromark Q24 analyzer (Qiagen)	Age-matched samples	Hypermethylation of CpGs in APP, MAPT and GSK3B
Kaut O. et al., 2014[139]	CCS/ AD cases compared to controls	Germany, PB, n = 105, 69.7 ± 7.6 years. Cortical tissue, n = 8, 77.15 ± 10.0 years, M and W	N = 55 and n = 4	PBMCs and cortical tissue	TNF-α promoter. 10 CpGs analyzed by bisulphite sequencing PCR		Cortex: Hypo-methylation PBMC: No difference
Nagata T. et al., 2015[43]	CCS/ Comparison of AD patients with age-matched controls	Japan, n = 40, 66.5 ± 5.09 years, M and W	N = 20	PBMCs	BDNF promoter 20 CpGs/ bisulfite sequencing		Hyper-methylation
Sanchez-Mut JV. et al., 2013[45]	CCS/ Comparison of AD patients with age and gender matched non-AD subjects	eBrainNet Europe Bank / n = 40, 76.5 ± 2.5 years	N = 20	Human post-mortem brain tissue (grey matter of frontal cortex)	F2RL2, SORBS3, SPN4 and TBX2AR bisulfite pyrosequencing		TBX2AR, SORBS3 and SPTBN4: Hyper-methylation F2RL2: No difference

(Continued)

Author	Study design	Population/Age range/Follow-up	Cases	Tissue type	Methylation sites/methods	Adjustments	Main finding
Siegmund KD, et al, 2007[46]	CCS/ Comparison of AD patients with controls (including schizophrenic subjects).	USA, N = 58, 60–104.3 years, M and W	N = 18	Human post-mortem brain tissue (temporal and frontal cortex)	50 loci related to central nervous system growth and development (SORBS3, S100A2, LDLR, MYOD1, MGMT, LZTS1, GDNF, PYCARD, STK11, UHR, CRABP1, PLAGL1, DIRAS3, PGR, SERPINB5, NEUROD2, GAD1, RNR1, ALU, TFAP2A, MINT1, CDKN2A, NTF3, SASH1, PAX8, SYK, NEUROD1, PSEN1, ALU, GABRA2, DRD2, LTBRA, ALU, HOXA1, CALCA, DNAJC15, SMAD3, CDX1, SCGB3A1, MT1A, TNFRSF25, MTHFR, MGMT, FAM127A, AR, LPHN2, ALU, RASSF1, BDNF)/ bisulfite pyrosequencing		SORBS3: Hyper-methylation; S100A2: Hypo-methylation; Other genes: No difference
Silva PN, et al, 2014[52]	CCS/ Comparison of AD patients with non-AD controls.	Canada, n = 79, 75.7 ± 8.2 years, M and W	N = 46	PB and human post-mortem brain tissue	HSPA8 and HSPA9, 22 and 34 CpGs respectively/ Sequenom EpiTyper MassARRAY		No difference overall, but differentially methylated CpG sites
Silva PND, et al, 2008[54]	CCS/ Comparison of AD patients with age matched non-AD controls and young controls.	Brazil, n = 145, 57.2 ± 4.9 years, M and W	N = 45	PB	SIRT3, SMARCA5, HTER1 and CHD1 gene/ bisulfite pyrosequencing		HTERT: Hyper-methylation; SIRT3, SMARCA5 and CHD1: No difference
Wang SC, et al, 2008[143]	CCS/ Comparison of late onset-AD patients with geographical location, ethnicity, age and sex matched non-AD controls	Germany, n = 34, 80.6 ± 9.4 years, M and W	N = 24	Human post-mortem brain tissue (prefrontal gyrus frontalis superior) and blood lymphocytes	12 AD's susceptibility loci (HTATIP, MTHFR, DNMT1, TFAM, SIN3A, NCSTN, BACE1, APP, PSEN1 APOE1 and APOE2)/ bisulfite pyrosequencing (MALDI-TOF mass spectrometry analysis)		No difference.
Wang Y, et al, 2014[52]	CCS/ Comparison of AD patients with age and sex matched non-AD controls.	China, n = 50, 75.4 ± 9.1 (60–90) years, M and W	N = 25	Blood lymphocytes.	DR4 gene promoter, 2 CpG islands (9 and 13 CpG sites each)/ Bisulfite sequencing		Hypo-methylation
West RL, et al, 1995[45]	CCS/ Comparison of female AD patients with age-matched controls.	USA, n = 3, 83, 74 and 81 years, W	N = 12	Human post-mortem brain tissue (Brodmann's area 38)	Amyloid precursor protein (APP) and superoxide dismutase (SOD-1) genes/ Methylation-sensitive restriction enzymes (HpaII).		APP, Hypo-methylation; SOD-1: No difference

(Continued)

Author	Study design	Population/Age range/Follow-up	Cases	Tissue type	Methylation sites/methods	Adjustments	Main finding
Rao JS, et al, 2012[34]	CCS/ Comparison of AD patients with age-matched controls.	USA, n = 20, 70.4 ± 2.4 years. Gender not specified	N = 10	Human post-mortem brain tissue (Brodmann's area 9)	Promoter of <i>COX-2</i> , <i>BDNF</i> , <i>NF-κB</i> , <i>CREB</i> , <i>12-LOX</i> , p450 epoxigenase, synaptophysin and debris-like genes/ Methylation-sensitive restriction enzymes		<i>COX-2</i> and <i>NF-κB</i> : Hypomethylation/ <i>BDNF</i> , synaptophysin and <i>CREB</i> : Hypermethylation/ <i>12-LOX</i> , debris-like protein or p450 epoxigenase: No difference
Yu L, et al, 2015 [61]	CCS/ Comparison of AD patients with non-AD controls.	USA, n = 740, 88 ± 6.7 years, M and W	N = 447	Human post-mortem brain tissue (gray matter)	28 reported AD loci/ Infinium HumanMethylation 450K (Illumina)	Age, sex, batch, bisulfite conversion efficacy, macroscopic and microscopic infarcts and cortical Lewy bodies	Results vary per CpG sites
Carboni L, et al, 2015[55]	CCS/ Comparison of AD patients with non-AD controls.	Italy, n = 39, 75 ± 7 years, M	N = 20	Peripheral blood	Promoter of <i>BDNF</i> , <i>SIRT1</i> and <i>PSEN1</i> / Bisulfite sequencing		No difference
Celarain N, et al, 2016[141]	CCS/ Comparison of AD patients with non-AD controls.	Spain, n = 42, 19 to 98 years, M and W	N = 30	Frozen postmortem hippocampus samples	<i>TREM2</i> transcription start site (TSS)-associated region / Bisulfite sequencing		Hypermethylation
Coppede F, et al, 2016[56]	CCS/ Comparison of late onset-AD (LOAD) patients with non-AD controls.	Italy, n = 111, 77.1 ± 8.8 years, M and W	N = 56	PB	Genes involved in major DNA repair pathways: <i>CGG1</i> , <i>PARP1</i> , <i>MRE11A</i> , <i>BRCA1</i> , <i>MLH1</i> , and <i>MGMT</i> / effective PCR based methylation-sensitive high-resolution melting (MS-HRM) technique	Age, gender and multiple comparison	No difference
Ferri E, et al, 2016[142]	CCS/ Comparison of AD patients with non-AD controls.	Italy, n = 283, 79.4 ± 0.5 years, M and W	N = 176	PBMCs	<i>Pin1</i> gene promoter, 5 CpG sites / Bisulfite sequencing	Age and gender	No difference
Foraker J, et al, 2015[143]	CCS/ Comparison of AD patients with non-AD controls.	USA, n = 26, 83.6 ± 9 years, M and W	N = 15	Postmortem brain, cerebellum, hippocampus, frontal lobe	<i>APOE</i> , 76 CpG sites/ Bisulfite sequencing	Age, sex, disease status, <i>APOE</i> genotype, CpG site, and tissue type, as well as all second-order interactions involving tissue	Hypermethylated

(Continued)

Author	Study design	Population/Age range/Follow-up	Cases	Tissue type	Methylation sites/methods	Adjustments	Main finding
Ji H, et al, 2015 [144]	CCS/ Comparison of sporadic AD patients with non-AD controls.	China, n = 106, 80.4 ± 8.4 years, M and W	N = 48	PB	Promoter <i>OPRK1</i> , 3 CpG sites/ Bisulfite pyrosequencing	History of smoking, diabetes and hypertension	Hypermethylated
Ma SL, et al, 2016[58]	CCS/ Comparison of AD patients with non-AD controls.	China, n = 260, 81.3 ± 7.0 years, W	N = 80	PB	<i>CTSB</i> , <i>CTSD</i> , <i>DOT</i> , <i>TSC1</i> , <i>NRD1</i> , <i>UQCRC1</i> and <i>NDUFA6</i> / Bisulfite pyrosequencing		Hypermethylated and no difference
Tannorella P, et al, 2015[57]	CCS/ Comparison of sporadic AD patients with non-AD controls.	Italy, n = 223, 76.6 ± 8.2 years, M and W	N = 120	PB	The promoter/5-UTR regions of <i>PSEN1</i> , <i>BACE1</i> , <i>MTHFR</i> , <i>DNMT1</i> , <i>DNMT3A</i> , and <i>DNMT3B</i> / Bisulfite pyrosequencing	Age at sampling, gender, homocysteine, folate, vitamin B12 and batch	No difference
Mendioroz M, et al, 2016[145]	CCS/ Comparison of AD patients with non-AD controls.	Spain, n = 42, age and sex not defined	N = 30	Hippocampus	<i>CRTC1</i> gene / Bisulfite pyrosequencing		Hypomethylation

Genome-wide approach

Bakulski K, et al, 2012[71]	CCS/Comparison of subjects with LOAD and age- and gender-matched controls	USA, n = 24, 79.8 years (range 69–95) (13 additional matched pairs for the population validation phase, 78.2 years (range 61–95)), M and W	N = 12/N = 13	Human post-mortem frontal cortex tissue	Genome-wide DNA methylation profile, 27,578 CpG sites spanning 14,475 genes/ Infinium HumanMethylation27 BeadArray (Illumina). Gene-specific DNA methylation/ bisulfite-pyrosequencing on the Qiagen PyroMark MD (Valencia, CA). Other: gene expression, protein quantification	Age and gender	948 CpG sites representing 918 unique genes potentially associated with LOAD disease status ($p < 0.05$). Across these sites the mean methylation difference between cases and controls is 2.9%. Hypermethylation in AD cases of molecular function and biological processes associated with transcription (e.g. RNA polymerase II transcription factor activity). Hypomethylation in AD cases of functions relating to membrane transport and protein metabolism. The CpG site in the promoter of the Transmembrane Protein 58 (<i>TMEM58</i>) gene is 7.3% hypomethylated in AD cases.
-----------------------------	---	--	---------------	---	---	----------------	--

(Continued)

Author	Study design	Population/Age range/Follow-up	Cases	Tissue type	Methylation sites/methods	Adjustments	Main finding
De Jager PL et al. 2014[72]	CCS/ comparison of participants in a prospective cohort study, with post-mortem diagnosis of AD.	USA, n = 708, M and W	60.8% (N = 430) of subjects met a pathological diagnosis of AD.	Cortical brain tissue	Methylation at 425,848 discrete CpG dinucleotides in 708 subjects (Illumina HumanMethylation beadset). Other: Identification of genes near the associated CpGs.		137 CpGs were found to be associated with the burden of neuritic amyloid plaques (NP) ($p < 1.20 \times 10^{-7}$). When corrected for the proportion of neurons and possible measurement artifacts, 71 CpG associations remained. 22 of the NP-associated CpGs were also associated with AD at a genome-wide level of significance, and all displayed at least ($p < 0.001$) some evidence of association with AD. Associated methylated regions included <i>ABCA7</i> and <i>BIN1</i> genes, which are known AD susceptibility regions.
Fernandez AF et al. 2012[146]	CS/ whole genome methylation "fingerprint" including normal tissues, oncogenic tissues, and non-cancerous disease tissues (such as AD and DLB)	Europe, Asia and North America, n = 1628, M and W	N = 11	Brain tissue and PBMCs	1322 CpG sites/ Golden Gate DNA methylation BeadArray (Illumina), Pyromark Q24 (Qiagen)		No significant difference was found between brain samples from AD patients and normal tissues.
Humphries C et al. 2015[73]	CCS/ AD cases compared to healthy controls and diseased controls (DLB)	USA, n = 30, 77.0 \pm 4.5 years	N = 8	Brain tissue	DNA methylation analysis including 5,147 CpG sites on 465 genes/ Illumina Infinium HumanMethylation 450 beadchip		1,106 CpG sites differed in LOAD-associated methylation network genes between LOAD and control subjects ($p < 0.05$). Hypomethylation was observed in LOAD subjects in 87.3% of these CpG sites.

(Continued)

Author	Study design	Population/Age range/Follow-up	Cases	Tissue type	Methylation sites/methods	Adjustments	Main finding
Sanchez-Mul JV et al. 2014 [74]	CCS/ Comparison of AD patients with non-AD subjects.	Spain, Discovery set: n = 20, 79.7 \pm 1.9 years. Replication set: n = 50, 71.7 \pm 2.1 years, M and W	Discovery set, n = 15. Replication set, n = 25	Human post-mortem brain tissue (grey matter, Brodmann area 9)	Illumina 27K array assay and bisulfite pyrosequencing		In the discovery set, four CpG methylation probes corresponding to 3 individual genes showed a significant difference between AD-cases and controls ($P < 0.05$); two hypermethylated CpGs in dual specificity phosphatase 22 (<i>DUSP22</i>), 1 CpG in claudin 15 (<i>CLDN15</i>) and 1 CpG in quiescin Q66 sulfhydryl oxidase 1 (<i>QSOX1</i>). In the replication set, the hypermethylation of <i>DUSP22</i> was confirmed.
Bernstein AL et al. 2016[75]	Comparison of AD with control cases	USA, n = 11, 78–91 years, M and W (both discovery and replication set)	N = 6	Human post-mortem brain tissue (frontal cortex)	5-methylcytosine and 5-hydroxymethylcytosine (5hmC)		There were 325 genes containing differentially hydroxymethylated loci (DhMLs) in both discovery and replication datasets. These are enriched for pathways involved in neuron projection development and neurogenesis.
Watson CT et al. 2016[76]	CCS/ Comparison of AD patients with non-AD subjects.	USA, n = 68, 66–95 years, M and W	N = 34	Bulk tissue samples from the superior temporoparietal gyrus	461,272 autosomal CpGs / HumanMethylation450 platform	AOD, gender, race, array/batch, and neuronal/glial cell composition.	There were 479 differentially methylated regions (DMRs) ((increased in AD; hyper-DMRs = 321, hypo-DMRs = 158), with relevant roles in neuron function and development, as well as cellular metabolism. Top DMRs were close to following genes: <i>MOV10L1</i> , <i>B3GALT4</i> , <i>DUSP6</i> , <i>TBX15</i> , <i>HLA-J</i> , <i>ZNRD1-AS1</i> , <i>PROM16</i> , <i>ELOVL1</i> , <i>RIBC2</i> , <i>SMC1B</i> , <i>KLK7</i> , <i>TRIM6</i> , <i>FBXSL1</i> , <i>VAX2</i> , <i>CDH23</i> , <i>KIF25</i> , <i>NRG2</i> , <i>RNF39</i> , <i>CMYA5</i> , <i>TNXB</i> , <i>NAV2</i> , <i>TAP2</i> , <i>ZNF177</i> , <i>FLOT1</i> .

Πίνακας 3. Ειδική μεθυλίωση γονιδίων στη νόσο του Πάρκινσον: προσεγγίσεις γονιδίων και γονιδιώματος (Research Article: The Role of DNA Methylation and Histone Modifications in Neurodegenerative Diseases: A Systematic Review).

Author	Study design	Population/Age range/Follow-up	Cases	Tissue type	Methylation sites/methods	Adjustments	Main finding
Candidate gene approach							
Al-SX, et al. 2014[53]	CCS/ Comparison between PD patients and neurologically healthy controls	China, n = 135, 61.8 ± 9.7 years, M and W	N = 100	PBMcs	25 CpG sites in the SNCA gene/ Bisulfite pyrosequencing (Epitect Bisulfite Kit, Qiagen) Other: genotyping of Hap1 (polymorphic dinucleotide repeat upstream of SNCA), n-PCR of SNCA	Age, gender and origin matched	Hypo-methylation
Bachner-Straumann J, et al. 2013[54]	CCS/ Comparison between PD patients and age-matched neurologically healthy controls	Multiple countries, n = 51, 70.5 ± 7.7 years, M and W	N = 8	Human post-mortem brain tissue (frontal cortex)	GRN promoter/ Sequenom MassARRAY platform		No difference
Cai M, et al. 2011[55]	CCS/ Comparison between PD patients (with and without heterozygous Parkin gene mutations) and neurologically healthy controls	China, n = 44, M and W	N = 34 (17 with heterozygous Parkin gene mutations and 17 without)	PBMcs	25 CpG sites in the Parkin gene promoter region/ Bisulfite sequencing (EZ DNA Methylation Kit, Zymo Research)	Age, gender and ethnicity matched	No difference
Coughlin RG, et al. 2014[56]	CS	Australia, n = 1442 leukocyte samples + 198 PD brain tissue DNA samples	N = 388	Leukocyte DNA and brain tissue DNA	Six CpGs in the MAPT gene/ Methylation assessed by bisulfite pyrosequencing (PyroMark Q96, Qiagen) Other: in vitro MAPT promoter methylation assay and Vitamin E assay	In leukocytes, adjustment for (amongst others) smoking, L-dopa medication, gender, age, MAPT genotype. In brain tissue (cerebellum), adjustment for age, sex and MAPT genotype	Hyper-methylation in the cerebellum. Hypo-methylation in the putamen.
Jewaid A, et al. 2010[57]	CCS/ Comparison between PD patients and neurologically healthy controls	Germany, n = 26, 77.5 ± 3.8 years, M and W	N = 12	Brain tissue (substantia nigra pars compacta (SNpc) and cortex and putamen)	Bisulfite sequencing of 25 CpG sites in the SNCA gene		Hypo-methylation
Song Y, et al. 2014[58]	CCS/ Comparison of PD patients with age, gender, ethnicity and area of residence matched controls	China, n = 100, 72.3 ± 7.5 years, M and W	N = 50	Blood leukocytes	α-synuclein gene (SNCA), 13 CpG/ bisulfite pyrosequencing		No difference
Lin G, et al. 2012[59]	CCS/ Comparison of PD patients with age and gender non-PD controls	China, n = 386, 66.2 ± 3.4 years, M and W	N = 386	Blood leukocytes	Clock genes (PER1, PER2, CRY1, CRY2, CLOCK, NPAS2 and BMAL1) bisulfite pyrosequencing		NPAS2: Hypo-methylation Other genes: No difference
Tan Y, et al. 2014[60]	CCS/ Comparison of PD patients with age and gender matched non-PD controls	China, n = 200, 65.2 ± 6.12 years, M and W	N = 100	Blood leukocytes	α-synuclein gene (SNCA) (2 CpG sites, 30 CpGs) and LRRK2 (1 CpG) island, 34 CpG/ promoter/ bisulfite Specific PCR-based and bisulfite Specific Cloning-based		Hypo-methylation
Villar-Mendez L, et al. 2014 [61]	CCS/ Comparison of PD patients with age-matched non-PD controls	Spain, n = 18, 24–85 years, M and W	N = 7	Human post-mortem brain tissue (putamen)	ADORA2A, 3 CpG island, 108 CpG sites/ Sequenom EpiTyper MassARRAY		Hypo-methylation
Nielsen SB, et al. 2015 [62]	CCS/ Comparison of PD cases with non-PD controls	USA, n = 301, 25–65 years, M	N = 48	WB	NOS2, 3CpG/ bisulfite pyrosequencing	Age, examiner and experimental plate	Hypo-methylation
Matsumoto L, et al. 2014[63]	CCS/ Comparison of PD cases with non-PD controls	Japan, n = 20, 57–87 years, M and W	N = 11	Human post-mortem brain tissue (anterior cingulate, putamen and substantia nigra)	α-synuclein gene (SNCA), CpG-2 / bisulfite sequencing		Hypo-methylation
Tan Y, et al. 2016[64]	CCS/ Comparison of PD cases with non-PD controls	China, n = 80, 62.5 ± 7.8 years, M and W	N = 40	Peripheral blood/leukocytes	U-1, 2 CpGs / bisulfite sequencing	Age	No difference
Su X, et al. 2015 [65]	CCS/ Comparison of PD cases with non-PD controls	USA, n = 20, 78.3 ± 8.1 years, M and W	N = 10	Substantia nigra	Porcine stem proliferation-activated receptor gamma coactivator-1 α (PSC-1α) bisulfite sequencing	Age	Hypermethylated
Schmitt J, et al. 2018[66]	CCS/ Comparison of PD cases with non-PD controls	Germany, n = 975, 64.6 ± 9.6 years, M and W	N = 400	PD	α-synuclein	Not clear	Hypomethylated

Genome-wide approach

(Continued)

Author	Study design	Population/Age range/Follow-up	Cases	Tissue type	Methylation sites/methods	Adjustments	Main finding
Kaul G. et al. 2012[27]	Case control study/ Comparison between PD patients and neurologically healthy controls	Germany, n = 18, 78.8 ± 10.1 years, M and W	N = 8	Brain tissue (cortex and putamen)	Genome-wide methylation: 17,500 individual CpG sites from 14,465 genes (EZ-DNA Methylation Global Kit (Zymo Research) and Illumina Human-Methylation450K BeadChip).		In both cortex and putamen of PD patients, CHST1 was hypomethylated (cortex: B-value: 0.37 ±0.27 (control) vs. 0.07 ±0.06 (PD), p = 0.04 and 0.48±0.17 (control) vs 0.07±0.07 (PD), p = 0.0005 respectively). This difference remained when the analysis was stratified by gender in the cortex of PD patients, the gene PPP4R2 was hypomethylated (0.50±0.30 (control) vs. 0.32 ±0.06 (PD), p = 0.00) in comparison to controls. In the putamen of PD patients, the gene MG2 3207 was hypomethylated when compared to controls(0.47 ±0.22 (control) vs. 0.16±0.13 (PD), p = 0.02). In the putamen of PD patients, CEP47 and CHFR were hypomethylated.
Masilah E. et al. 2013[28]	Genome-wide DNA methylation Case control study/ Comparison of PD cases with age matched non-PD controls.	USA (n = 11), M and W	N = 5	Human post-mortem brain tissue (frontal cortex) and PBs.	48586 CpG/ HumanMethylation450k BeadChip (Illumina # WG-314-1000)		2508 CpG—174 genes (317 hypomethylated-84 genes and 259 hypomethylated—80 genes) in the brain and 3607 CpG—233 genes (475 hypomethylated-127 genes and 343 hypomethylated-106 genes) in the blood of PD cases were differentially methylated compared to controls. 30% (124/407) of the total autosomal enriched genes differentially methylated presented concordant changes in methylation between blood and brain (53 loci with increased methylation and 61 with decreased methylation), suggesting that a number of methylation changes in PD is shared between brain and blood, positioning these 124 genes that co-varied among tissues as candidates for biomarker discovery. Top 30 loci hypomethylated in PD: NCTD5, VAV2, MCG, TRIM10, HLA-DQA1, ARHGAP10, GPP33, HLA-DQB1, TMEM9, MIR1, MAPT, HLA-DREB, MAPT, HLA-DREB, LASS3, GSTP2 and GSTT1. Hypomethylated in PD: DNAAF3, JAKMIP3, PIR, LINC27, OMBK1, LGALS7, PD3K1, APBA1, MAGI2, APBA1, SLC25A24, GSTT1, MYO10, ANKRD1, TUBA3B and TMOD3. Gene ontology analysis showed that some functional groups were affected in brain and blood, with cell communication and cellular and metabolic processes being the more populated clusters, and including genes related to apoptosis, a molecular pathway largely implicated in PD. Overall methylation patterns of the brain and blood were similar, with more than 80% of the sites reported as differentially methylated being hypomethylated. While there were no differences between brain and blood in CpGs clustering in low-methylated fraction, there were more CpGs in the high-methylated fraction in PD blood in comparison to control subject's blood and also to PD brains (P<0.001). CpG neighborhood context analysis and genomic location distribution was comparable between brain and blood samples and showed that loci with decreased methylation were more likely to locate at CG islands and associated with promoter regions including TSS1500, TSS200 and 1 st exon sites, while CpG sites located further away from islands (open sea) and at the gene bodies were more likely to present increased methylation.

Έχουμε επανεξετάζοντας συστηματικά τις τρέχουσες γνώσεις σχετικά με επιγενετικές συσχετίσεις με τη νόσο του Αλτσχάιμερ (AD) και τη νόσο του Πάρκινσον (PD). Υπάρχουν κάποιες ενδείξεις ότι η μεθυλίωση του DNA μπορεί να σχετίζεται με τον κίνδυνο νευρολογικής νόσου. Μεταξύ των ειδικών γονιδιακών μελετών, βρέθηκε ότι η μεθυλίωση του DNA σε 24 γονίδια συσχετίζεται AD, ενώ 7 γονίδια διαφορεικά μεθυλιώνονται σε PD.

Η επισκόπηση αυτή βρίσκει ασυνεπείς συσχετισμούς μεταξύ της παγκόσμιας μεθυλίωσης DNA και της AD. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες που παρουσιάζουν αντιφατικά αποτελέσματα όταν μελετούν τη σχέση μεταξύ της παγκόσμιας μεθυλίωσης του DNA και άλλων αποτελεσμάτων της υγείας, συμπεριλαμβανομένων των καρδιαγγειακών παθήσεων και του διαβήτη (170, 81, 142, 91, 126, 111, 110). Η χρήση

διαφορετικών μεθόδων για την εκτίμηση της παγκόσμιας μεθυλίωσης DNA, συμπεριλαμβανομένης της αναλογίας 5-μεθυλοκυτοσίνης και της μεθυλίωσης των στοιχείων επανάληψης LINE-1 και Alu, μπορεί να αντιπροσωπεύει μερικές από αυτές τις διαφορές. Τα στοιχεία επανάληψης LINE-1 και Alu χρησιμοποιούνται ως μέτρο της γενικής μεθυλίωσης του DNA λόγω της απανταχού παρουσίας τους στο γονιδίωμα. Ωστόσο, καθώς μπορεί να έχουν διαφορετικές λειτουργίες, οι προκύπτουσες διαφορές στη μεθυλίωση μπορεί να εξηγήσουν μερικούς από τα αντικρουόμενα αποτελέσματα (113). Η μεθυλίωση του DNA στο Alu είναι περίπου το ένα πέμπτο έως το ένα τέταρτο της μεθυλίωσης στο LINE-1. Η διαφορά μπορεί να υποδηλώνει ότι οι επιγενετικές μεταβολές στα LINE-1 και Alu μετράνε διαφορετικά χαρακτηριστικά (113). Η καθολική μεθυλίωση του DNA που αξιολογείται από την LUMA συσχετίζεται σε μέτριο βαθμό με τη μεθυλίωση LINE-1, υποδηλώνοντας ότι οι διαφορές στα αναφερόμενα αποτελέσματα μπορεί να προέρχονται από τον προσδιορισμό που χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση της καθολικής μεθυλίωσης του DNA (158). Επιπλέον, καθώς διαφορετικοί τύποι ιστών (ιστός εγκεφάλου ή δείγματα περιφερικού αίματος) αξιολογούνται μεταξύ των μελετών, τα πρότυπα μεθυλίωσης DNA που είναι ειδικά για τον ιστό μπορούν να εξηγήσουν μερικώς τα ετερογενή ευρήματα. Ακόμη και σε μελέτες που διεξάγονται σε εγκεφαλικό ιστό, λαμβάνονται δείγματα από διάφορες περιοχές του εγκεφάλου, συμπεριλαμβανομένου του φλοιού, της παρεγκεφαλίδας και του ιπποκάμπου ιστού. Αυτή η διαφορά μπορεί να περιορίσει τη συγκρισιμότητα των αποτελεσμάτων καθώς οι συγκεκριμένες περιοχές του εγκεφάλου περιλαμβάνουν διαφορετικούς κυτταρικούς πληθυσμούς (αστροκύτταρα, νευρώνες, μικρογλοία, ολιγοδενδροκύτταρα). Επιπλέον, το ίδιο μοτίβο μεθυλίωσης, ανάλογα με τη θέση του προς το κωδικοποιητικό γονίδιο, μπορεί να έχει διαφορετικά αποτελέσματα (76, 7). Επομένως, η καθολική μεθυλίωση του DNA παρέχει μια υπερπροσαρμοσμένη εκτίμηση της επιγενετικής δυσλειτουργίας, καθώς δεν αναγνωρίζει ούτε ποσοτικά ούτε ποιοτικά την συνύπαρξη υπομονάδας υπερμεθυλίωσης εντός ενός γονιδίου ή διακριτών γονιδίων μέσα στο ίδιο κύτταρο.

Βρέθηκε ότι διάφορα γονίδια μεθυλιώνονται διαφορεικά στον ιστό του εγκεφάλου ή στο περιφερικό αίμα των ασθενών με AD σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Συγκεκριμένα, ο νευροτροφικός παράγοντας που προήλθε από τον εγκέφαλο (BDNF) και ο SORBS3 βρέθηκαν σε δύο διαφορετικές μελέτες να είναι σημαντικά πιο μεθυλιωμένοι σε ασθενείς με AD, παρά στους μάρτυρες. Αυτά τα αποτελέσματα έχουν παραλληλιστεί σε προηγούμενες μελέτες που δείχνουν μια συσχέτιση μεταξύ της υπερμεθυλίωσης του BDNF στο αίμα και την κατάθλιψη, των καταθλιπτικών συμπτωμάτων και της ανταπόκρισης στα

αντικαταθλιπτικά (73). Παρομοίως, προηγούμενες μελέτες έχουν αναφέρει την υπερμεθυλίωση του BDNF και του υποδοχέα του (Κρονάση Β σχετιζόμενη με την τροπιμοσίνη) σε εγκεφάλους ατόμων που έχουν αυτοκτονήσει (50, 78). Το BDNF είναι μια εκκριτική πρωτεΐνη με νευροπροστατευτικά αποτελέσματα (112), η οποία έχει αποδειχθεί ότι συσχετίζεται με νευροεκφυλιστικές νόσους, συμπεριλαμβανομένων των AD, PD και της νόσου του Huntington (176). Το BDNF έχει δείχθει ότι υπερμεθυλιώνεται στο περιφερικό αίμα των ασθενών με AD σε σύγκριση με τους μάρτυρες, ενδεικτικό της μειωμένης έκφρασης του BDNF. Αυτό συμβαδίζει με τα ευρήματα στον εγκεφαλικό ιστό των ασθενών που διαγνώστηκαν μεταθανάτια με AD (Rao JS, Keleshian VL, Klein S, Rapoport) και με άλλες μελέτες που δείχνουν ότι η μεθυλίωση του BDNF promoter σχετίζεται με την έκφραση του BDNF mRNA (78). Δεδομένου ότι το BDNF είναι ικανό να διασχίσει τον αιματοεγκεφαλικό φραγμό (119), η μεθυλίωση του DNA στον περιφερειακό ιστό μπορεί να έχει αποτελέσματα στον νευρωνικό ιστό και αντίστροφα, υπογραμμίζοντας την πιθανή χρησιμότητα της περιφερικής μεθυλίωσης BDNF ως βιοδείκτη για AD. Αυτό υποστηρίζεται από την επικάλυψη των επιγενετικών αλλαγών τόσο στον εγκεφαλικό ιστό AD όσο και στο περιφερικό αίμα. Το SORBS3 εμπλέκεται στη νευρωνική σηματοδότηση (71) και τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης (95) και βρέθηκε σε δύο μελέτες να υπερμεθυλιώνονται στον μετωπιαίο φλοιό των ασθενών με AD. Ωστόσο, ο ρόλος της στην παθογένεση της AD και αν η μεθυλίωση του SORBS3 είναι σταθερός σε όλους τους τύπους ιστών, παραμένει προς διερεύνηση.

Επίσης, τα γονίδια των πρωτεϊνών που εμπλέκονται στην παθογένεση της AD, όπως το CREB, διαφοροποιήθηκαν με διαφορεικό τρόπο στην PD, αλλά τα στοιχεία είναι πολύ περιορισμένα για να καταλήξουμε σε σταθερό συμπέρασμα. Η AD συσχετίζεται με μειωμένη ενεργοποίηση του CREB. Το CREB είναι μια ακετυλοτρανσφεράση ιστόνης που λειτουργεί ως ένας συνενεργοποιητής που καταλύει την ακετυλίωση ιστόνης προκαλώντας μείωση της μεταγραφής των γονιδίων που συσχετίζονται με τη μνήμη και συνεπώς οδηγώντας σε εξασθένηση της μνήμης (157). Η θεραπεία που στοχεύει τον μηχανισμό μεταγραφής που αλληλεπιδρά με CREB κατά τη διάρκεια της συγκρότησης μνήμης έχει προταθεί ως μια χρήσιμη στρατηγική για τη θεραπεία της AD (157). Περαιτέρω, γονίδια πρωτεϊνών όπως ο DR4 και το NP-κΒ εμπλέκονται σε διαδικασίες οι οποίες μπορεί να παίζουν ρόλο στην παθογένεση της AD όπως αποπτωτισμό και / ή φλεγμονή. Τα γονίδια DR4 και NF-κΒ είχαν διαφορετική μεθυλίωση στις περιπτώσεις με AD (48, 62). Το DR4 μπορεί να βλάψει την αποπτωτική μεταγωγή σήματος και μπορεί να προκαλέσει απόπτωση των εγκεφαλικών

κυττάρων (48). Οι πολυμορφισμοί του γονιδίου DR4 έχουνδειχθεί ότι επηρεάζουν την ευαισθησία στην AD (48). Η ενεργοποίηση του NF-kB είναι ένα κοινό χαρακτηριστικό πολλών νευροεκφυλιστικών νόσων, ιδιαίτερα της AD (62). Η ενεργοποίηση του NF-kB οδηγεί στην έκφραση μιας μεγάλης ποικιλίας προ-φλεγμονωδών μορίων όπως οι κυτοκίνες και οι χημειοκίνες, οι οποίες θα μπορούσαν να είναι εν μέρει υπεύθυνες για τη νευροτοξικότητα που παρατηρείται στην AD (62). Η αλληλεπίδραση της μεθυλίωσης αυτών των γονιδίων με μοριακές οδούς και το πώς αυτό επηρεάζει τον κίνδυνο της AD απομένει να διασαφηνιστεί.

Σε ασθενείς με PD, το SNCA βρέθηκε σταθερά υπομεθυλιωμένο τόσο σε κύτταρα περιφερικού αίματος όσο και στον εγκεφαλικό ιστό. Είναι γνωστό ότι είναι ένα αιτιολογικό γονίδιο της οικογενειακής PD (144), η υπερέκφραση του SNCA στις σποραδικές περιπτώσεις PD (32, 64, 65) υποδεικνύει ένα ρόλο στην παθογένεση σποραδικού PD. Το εύρημα ότι το SNCA είναι παρομοίως υπομεθυλιωμένο τόσο στο περιφερικό αίμα όσο και στους εγκεφαλικούς ιστούς είναι σύμφωνο με προηγούμενες μελέτες και δείχνει ότι μπορεί να είναι χρήσιμο ως βιοδείκτης σε σποραδικό PD.

Επίσης, πολλά διαφορετικά γονίδια που εμπλέκονται στην παθογένεση του PD αναφέρθηκαν να διαφοροποιούνται με μεθυλίωση σε περιπτώσεις PD, συμπεριλαμβανομένων των NOS2 (υπομεθυλιωμένα), ADORA2A (υπομεθυλιωμένα) και CYP2E1 (υπομεθυλιωμένα). Το NOS2, το γονίδιο που κωδικοποιεί για επαγωγή συνθετάση νιτρικού οξειδίου (iNOS) ρυθμίζεται κυρίως στο μεταγραφικό επίπεδο, τουλάχιστον μερικώς μέσω μεθυλίωσης του DNA (27). Η υπομεθυλίωση των θέσεων CpG στην περιοχή 5' του γονιδίου του υποκινητή μπορεί να αυξήσει την έκφραση της iNOS (27). Η αυξημένη έκφραση του iNOS με τη σειρά του προάγει τη φλεγμονή και μπορεί να οδηγήσει σε PD (6). Σύμφωνα με αυτές τις αποδείξεις, έχει αναφερθεί ότι ένας εκλεκτικός αναστολέας iNOS, GW274150 ([2 - [(1-ιμινοαιθυλ) αμινο] αιθυλ] -L-ομοκυστεΐνη) έχει νευροπροστατευτικό αποτέλεσμα σε ένα μοντέλο PD (21). ADORA2A είναι το γονίδιο που κωδικοποιεί τον υποδοχέα A2A αδενοσίνης (A2AR), ο οποίος εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό στο ραβδωτό σώμα. Οι ADORA2A πολυμορφισμοί συνδέονται αντιστρόφως με τον κίνδυνο PD (123). Επίσης, οι ανταγωνιστές του A2AR είναι αποτελεσματικοί στην ανακούφιση των κινητικών συμπτωμάτων του Πάρκινσον και έχουν προταθεί ως πιθανά νέα φάρμακα για θεραπεία PD (8). Οι κωδικοί CYP2E1 για το Cytochrome P450 2E1, ένα μέλος της οικογένειας ενζύμων Cytochrome P450, που αντιπροσωπεύουν ένα σημαντικό μέρος της κυτταρικής άμυνας ενάντια στην έκθεση σε ξеноβιοτικά και έχουν εμπλακεί στην παθοφυσιολογία του PD από

τα μέσα της δεκαετίας του 1980 (128). Η μειωμένη μεθυλίωση του CYP2E1 σχετίζεται με την αυξημένη έκφραση του αγγελιοφόρου RNA του CYP2E1 σε ασθενείς με PD (77). Η ενισχυμένη δραστηριότητα του CYP2E1 υποστηρίζει ότι συμβάλλει στην ντοπαμινεργική νευροεκφυλίωση στο PD (128, 164).

Δείξαμε ότι ενώ οι επιγενετικές μεταβολές στους ασθενείς με AD και PD έχουν διερευνηθεί μέσω μελετών γενικής μεθυλίωσης και ειδικών γονιδίων μεθυλίωσης, δεν υπάρχουν ευρήματα σχετικά με την τροποποίηση της ιστόνης. Οι τροποποιήσεις του ιστονίου είναι ένα άλλο επιγενετικό σημάδι που παίζει πρωταρχικό ρόλο στην επιγενετική ρύθμιση της μεταγραφής και άλλων λειτουργιών στα κύτταρα, συμπεριλαμβανομένων των νευρώνων (61). Οι μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις ιστονών παρεμβαίνουν στο μεταγραφικό πρόγραμμα που προκαλεί μακροχρόνιες φαινοτυπικές αλλαγές στη νευρική πλαστικότητα, συμπεριλαμβανομένης της μάθησης και της μνήμης (138, 120). Πολλά ένζυμα εμπλέκονται στη ρύθμιση των ιστονών, συμπεριλαμβανομένων διαδικασιών όπως η ακετυλίωση, η μεθυλίωση, η φωσφορυλίωση, η σουμοϋλίωση και η ουβικιτινίωση, οι οποίες μπορεί να διαδραματίσουν σημαντικούς ρόλους στην παθογένεση της ND (146). Οι δεακετυλάσες ιστονών (HDACs) έχουν αναφερθεί ότι είναι δραστικές σε αυτές τις διεργασίες. Το βαλπροϊκό οξύ, ένας αναστολέας των HDACs, επιδεικνύει νευροπροστασία κατά της ροτενόνης σε ένα μοντέλο αρουραίου του PD (109). Επίσης σε πειραματόζωα AD και PD, η ακετυλίωση ιστόνης έχει συνδεθεί με νευροεκφυλισμό (146, 57). Μια μελέτη σε ασθενείς με νόσο του Huntington έδειξε ότι οι περισσότερες από τις αναγνωρισμένες τροποποιήσεις ιστόνης στον εγκέφαλο σχετίζονται με γονίδια που έχουν γνωστούς ρόλους στη νευρωνική σηματοδότηση (12). Αυτά τα ευρήματα υποδεικνύουν ότι οι τροποποιήσεις ιστονών μπορεί να είναι μια σχετική μορφή επιγενετικής αλλαγής σε ασθενείς με νευρολογικές παθήσεις. Ως εκ τούτου, πολλές πληροφορίες μπορούν ακόμα να αποκτηθούν από μελέτες τροποποίησης ιστόνης σε ασθενείς με AD ή PD.

Συνολικά, τα ευρήματα δείχνουν ότι υπάρχουν σημαντικές επιγενετικές διαφορές μεταξύ ασθενών με νευροεκφυλιστικές ασθένειες και υγιή άτομα. Επιπλέον, οι υποψήφιες γονιδιακές μελέτες έχουν δείξει ότι μερικά γονίδια που είναι γνωστό ότι παίζουν ρόλο στη διατήρηση και τη λειτουργία των νευρολογικών ιστών διαφοροποιούνται με την μεθυλίωση σε άρρωστα άτομα. Επιπλέον, πολλά από αυτά τα γονίδια, όπως το BDNF σε ασθενείς με AD και το SNCA σε ασθενείς με PD, ομοίως μεθυλιώνονται στο αίμα και στον ιστό του εγκεφάλου. Σύμφωνα με τις ίδιες γραμμές, οι μελέτες επιγενετικής ευρείας συσχέτισης δείχνουν ότι διαφορεικά μεθυλιωμένες θέσεις στις νευρολογικές διαταραχές παρουσιάζουν

παρόμοιες αλλαγές στη μεθυλίωση μεταξύ αίματος και εγκεφάλου. Αυτά τα δεδομένα υποδηλώνουν ότι οι μελέτες στο περιφερικό αίμα μπορούν να παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες για τις νευρωνικές επιγενετικές αλλαγές και τις συνέπειές τους στη λειτουργία των κυττάρων. Επομένως, η διαμόρφωση μεθυλίωσης στο περιφερικό αίμα για τον εντοπισμό των μεθυλιωμένων περιοχών που σχετίζονται με νευρολογικές διαταραχές έχει μεγάλη πιθανότητα κλινικής χρησιμότητας. Μπορεί να επιτρέψει στους κλινικούς ιατρούς να εντοπίσουν άτομα υψηλού κινδύνου που μπορούν να επωφεληθούν από προληπτικές και θεραπευτικές παρεμβάσεις. Ωστόσο, λόγω του κυρίως διασταυρωτικού σχεδιασμού περιλαμβανομένων μελετών και της έλλειψης αντιγραφής στην περίπτωση νέων ευρημάτων, παραμένουν πολλά ερωτήματα σχετικά με τη χρονική σχέση μεταξύ των επιγενετικών τροποποιήσεων και των νευρολογικών ασθενειών, καθώς και τη σημασία των ευρημάτων στην παθολογία των ασθενειών. Επίσης, δεδομένης της αναστρέψιμης φύσης των επιγενετικών παρεκκλίσεων, η στόχευση του επιγονιδιώματος μπορεί να είναι μια νέα προληπτική στρατηγική και θεραπεία για AD και PD. Υπάρχουν στοιχεία που δείχνουν ότι οι δότες μεθυλίου όπως το φυλλικό οξύ και η βιταμίνη B12 μπορεί να επηρεάσουν τη μεθυλίωση του DNA και τον κίνδυνο για αρκετές νευροεκφυλιστικές καταστάσεις, συμπεριλαμβανομένων των AD και PD (89, 36). Έρευνες από μελέτες σε ζώα δείχνουν ότι οι αναστολείς της αποακετυλάσης ιστόνης μειώνουν τα επίπεδα β-λεμφοκυττάρων και βελτιώνουν τη μάθηση και τη μνήμη στα μοντέλα ποντικού της νόσου του Alzheimer. Αυτά τα ευρήματα παρέχουν υποστήριξη ότι οι αναστολείς της αποακετυλάσης ιστόνης μπορούν να χρησιμεύσουν ως μια νέα θεραπευτική στρατηγική για την AD (150). Η επιγενετική θεραπεία έχει αποδειχθεί ότι αναστρέφει επιτυχώς μερικά επιγενετικά σημάδια και συμπτώματα ασθενειών και έχει εγκριθεί από το FDA για χρήση στον καρκίνο (143). Ως εκ τούτου, οι μελέτες σε μεγαλύτερες ομάδες με παγκόσμια σχεδίαση μπορεί να συμβάλλουν στο κλείσιμο του χάσματος σχετικά με τον εντοπισμό επιγενετικών αλλαγών που έχουν κλινική σημασία και θα μπορούσαν να οδηγήσουν σε στρατηγικές παρέμβασης σε νευρολογικές παθήσεις.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ολοένα και πιο συχνό φαινόμενο αποτελούν οι νευροεκφυλιστικές παθήσεις, λόγω της αύξησης του προσδόκιμου επιβίωσης και της αύξησης του πληθυσμού. Η αύξηση των

περιστατικών αυτών των νοσημάτων είναι πιθανό να σχετίζεται επίσης με γενετικούς παράγοντες, αλλά και με τις αυξημένες δυνατότητες διάγνωσης και τεκμηρίωσής τους, καθώς τα εργαλεία που χρησιμοποιούνται πλέον είναι πιο ευαίσθητα και οι επιδημιολογικές μελέτες πιο άρτιες. Εντυπωσιακό είναι το στοιχείο ότι οι παθήσεις αυτές, εκτός από τις μεγάλες ηλικίες, μπορούν να εμφανιστούν ακόμη και στις ηλικίες των 30 ή των 40 ετών- αν και αυτές οι περιπτώσεις είναι μάλλον σπάνιες. Είναι σαφές ότι αυτά τα νοσήματα δεν προκύπτουν από τη μια μέρα στην άλλη κι ότι απαιτούνται συνήθως πολλά έτη για να εξελιχθούν. Γι' αυτό τον λόγο, η συχνότητά τους αυξάνεται με την ηλικία και αφορούν συνήθως τις ηλικίες μετά τα 60. Όμως, μπορεί να συμβούν σπανίως και σε μικρότερες ηλικίες, ειδικά όταν συντρέχουν ειδικοί επιβαρυντικοί γενετικοί ή περιβαλλοντικοί παράγοντες. Ο όρος «νευροεκφυλιστικές ασθένειες» είναι ένας γενικός όρος που περιλαμβάνει μία σειρά από παθήσεις, οι οποίες προσβάλλουν τους νευρώνες του ανθρώπινου εγκεφάλου.

Οι νευρώνες αποτελούν δομικές μονάδες του νευρικού συστήματος που περιλαμβάνει τον εγκέφαλο και τον νωτιαίο μυελό. Κατά κανόνα, οι νευρώνες δεν αναπαράγονται και δεν ανανεώνονται, επομένως εάν υποστούν βλάβη ή πεθάνουν δεν μπορούν να αντικατασταθούν από τον οργανισμό. Μερικά παραδείγματα νευροεκφυλιστικών ασθενειών είναι η νόσος Parkinson, η νόσος Alzheimer και η νόσος Huntington.

Οι νευροεκφυλιστικές ασθένειες είναι ανίατες παθήσεις που επιφέρουν αναπηρία και οδηγούν στην προοδευτική εκφύλιση ή/και τον θάνατο των νευρικών κυττάρων. Αυτή η εξέλιξη προκαλεί προβλήματα στην κίνηση (αταξία) ή στη νοητική λειτουργία (άνοια).

Επιγενετική είναι η μελέτη κληρονομήσιμων αλλαγών στην έκφραση των γονιδίων χωρίς αλλαγές στην αλληλουχία του DNA. Οι τρεις κύριοι επιγενετικοί μηχανισμοί είναι η μεθυλίωση του DNA, οι τροποποιήσεις της ιστόνης και η ύπαρξη μικρο-RNAs (miRNAs). Και οι τρεις μηχανισμοί μπορούν να ρυθμίσουν τη μεταγραφή των γονιδίων τροποποιώντας την πρόσβαση στους υποκινητές γονιδίων (gene promoters) και στις ρυθμιστικές περιοχές. Η μεθυλίωση του DNA, ο επιγενετικός μηχανισμός που έχει μελετηθεί καλύτερα στις περισσότερες έρευνες, αφορά στην προσθήκη μεθυλικών ομάδων στις κυτοσίνες με την ενέργεια ενζύμων γνωστών ως μεθυλοτρανσφεράσες (methyltransferases). Αυτή η προσθήκη έχει σαν αποτέλεσμα τη συμπίεση της χρωματίνης και συνεπώς την καταστολή της έκφρασης του γονιδίου. Η μεθυλίωση του DNA συνεισφέρει επίσης στη διατήρηση της ακεραιότητας του γονιδιώματος, εμποδίζοντας τη μεταγραφή των επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών του

DNA (repetitive DNA sequences) και των ενδογενών μεταθετών (transposons). Οι τροποποιήσεις της ιστόνης αφορούν μετα-μεταφραστικές αλλαγές στις ιστόνες, τις σφαιρικές πρωτεΐνες που σχηματίζουν τη χρωματίνη και ταξινομούν το DNA σε νουκλεοσώματα. Αυτές οι τροποποιήσεις μπορεί να είναι ακετυλίωση, μεθυλίωση, φωσφορυλίωση, κιτρουλινίωση, τροποποίηση με SUMO πρωτεΐνη ή την πρωτεΐνη ubiquitin (ubiquitination) και ριβοζυλίωση με διφωσφορική αδενοσίνη και επιδρούν σε ποικίλες βιολογικές διεργασίες, όπως τη ρύθμιση των γονιδίων και την επιδιόρθωση του DNA (π.χ. η ακετυλίωση της ιστόνης συνήθως σχετίζεται με ενεργοποίηση του γονιδίου). Τα miRNAs είναι μονής-αλυσίδας τμήματα RNA που δεν μεταφέρουν κώδικες για πρωτεϊνοσύνθεση και ρυθμίζουν αρνητικά την έκφραση των γονιδίων δεσμεύοντας περιοχές αγγελιοφόρων RNA (mRNAs).

Οι επιγενετικοί μηχανισμοί έχουν συσχετιστεί με έκθεση σε περιβαλλοντικούς ρύπους. Η έκθεση σε τοξικά μέταλλα, συμπεριλαμβανομένων του αρσενικού, καδμίου, μόλυβδου, νικελίου, χρωμίου, και μεθυλο-υδραργύρου, έχει συνδεθεί με παρεκκλίνουσες αλλαγές στη μεθυλίωση του DNA και τροποποιήσεις της ιστόνης. Είναι γνωστό ότι τα μέταλλα αυξάνουν την παραγωγή αντιδραστικών ειδών οξυγόνου (reactive oxygen species), και οι οξειδωτικές βλάβες του DNA μπορούν να τροποποιήσουν την ικανότητα των μεθυλοτρανσφερασών να αλληλοεπιδρούν με το DNA έχοντας σαν αποτέλεσμα την παρέκκλιση από τα φυσιολογικά πρότυπα μεθυλίωσης του DNA. Η έκθεση σε αέριους ρύπους, όπως η σωματιδιακή ύλη, ο μαύρος άνθρακας και το βενζόλιο έχει επίσης συσχετιστεί με αλλαγές στη γενική και/ή ειδική για συγκεκριμένα γονίδια μεθυλίωση του DNA. Αυτές οι αλλαγές προσομοιάζουν τις επιγενετικές αλλαγές που έχουν ανευρεθεί σε νοσήματα που έχουν συσχετιστεί με έκθεση στους αέριους ρύπους, όπως καρδιαγγειακά νοσήματα και αιματολογικές κακοήθειες. Χημικά που προκαλούν ενδοκρινικές διαταραχές και τοξικές για το αναπαραγωγικό σύστημα ουσίες [δισφαινόλη Α, διοξίνη, διαιθυλστυλβεστρούλη, επίμονοι οργανικοί ρύποι (persistent organic pollutants)], παρασιτοκτόνα, και χημικά στο πόσιμο νερό είναι επίσης μερικές άλλες χημικές ουσίες που η σχέση τους με επιγενετικές αλλαγές έχει διερευνηθεί σε πειραματικές και εργαστηριακές μελέτες αλλά και σε μελέτες σε ανθρώπους.

Τα ευρήματα που συσχετίζουν τις περιβαλλοντικές εκθέσεις με επιγενετικούς δείκτες αυξάνονται ταχέως, ενώ υπάρχουν μελέτες που έχουν συσχετίσει τους ίδιους ή παρόμοιους επιγενετικούς δείκτες με νοσήματα ή νοσούντες ιστούς που έχουν αιτιολογικός συνδεθεί με τις ίδιες περιβαλλοντικές εκθέσεις. Ωστόσο, δεν είναι ακόμη γνωστό αν οι επιγενετικές αλλαγές που παρατηρούνται έπειτα από έκθεση σε τοξικές ουσίες βρίσκονται στην

αιτιολογική αλυσίδα μεταξύ έκθεσης και νοσήματος. Είναι πιθανό οι αλλαγές στο επιγονιδίωμα να θέτουν τα εκτεθειμένα άτομα επιρρεπή στην ανάπτυξη του νοσήματος. Επιπρόσθετα, οι επιγενετικές επιδράσεις μπορεί να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στον καθορισμό κινδύνων που μεταφέρονται από γενεά σε γενεά όπως επίσης και στην εμβρυϊκή προέλευση των νοσημάτων. Υπάρχουν αναφορές χημικών ουσιών που έχουν προκαλέσει δυσμενείς συνέπειες οι οποίες μεταδίδονται από γενεά σε γενεά και η μετάδοση επιγενετικών αλλαγών έχει προταθεί ως δυνητικά ενδιάμεσο στάδιο. Η έκθεση σε περιβαλλοντικούς χημικούς παράγοντες κατά την προγεννητική και πρώιμη παιδική ηλικία σε κρίσιμα στάδια της ανάπτυξης έχει βρεθεί να προκαλεί επιγενετικές αλλαγές, οι οποίες στη συνέχεια ενδεχομένως να προκαλούν δυσμενείς επιδράσεις στην υγεία στην ενήλικη ζωή.

Η αξιολόγηση εκθέσεων του παρελθόντος σε περιβαλλοντικούς ρύπους αποτελεί συνήθως μια αδυναμία των επιδημιολογικών μελετών. Οι επιγενετικοί δείκτες έχουν τη δυνατότητα να βελτιώσουν την αξιολόγηση της έκθεσης στην έρευνα επειδή μπορεί να διατηρηθούν ακόμα και όταν η έκθεση έχει σταματήσει εξαιτίας της ικανότητας τους να μεταδίδονται μέσω της κυτταρικής διαίρεσης. Συνεπώς, έχουν τη δυνατότητα να αντιπροσωπεύουν παρελθούσες έως και ενδομήτριες περιβαλλοντικές εκθέσεις δρώντας ως μοριακά αρχεία των εκθέσεων αυτών.

Η Περιβαλλοντική Επιγενετική είναι αναμφίβολα ένας αναπτυσσόμενος τομέας, οι εξελίξεις του οποίου μπορεί να προσφέρουν ενδείξεις για το πώς οι περιβαλλοντικές τοξικές ουσίες επιδρούν δυσμενώς στην ανθρώπινη υγεία. Ωστόσο, υπάρχουν πολλές προκλήσεις στη μελέτη της σχέσης των επιγενετικών μηχανισμών με τοξικές εκθέσεις και σχετικές εκβάσεις νοσημάτων. Κάθε περιβαλλοντική έκθεση μπορεί να προκαλεί επιγενετικές τροποποιήσεις που ποικίλλουν από ιστό σε ιστό και αυτή η ποικιλότητα μπορεί να επεκταθεί και στο κυτταρικό επίπεδο. Συνεπώς, οι επιγενετικές επιδράσεις μπορεί να μην είναι δυνατόν να γενικευθούν σε άλλους ιστούς και οι μελλοντικές μελέτες πρέπει να εξετάσουν τις επιγενετικές επιδράσεις των ίδιων περιβαλλοντικών παραγόντων σε διαφορετικούς ιστούς. Μια άλλη πρόκληση που αντιμετωπίζουν οι ερευνητές είναι το γεγονός ότι οι παρατηρούμενες αλλαγές του επιγονιδιώματος μπορεί να μην προηγούνται του νοσήματος αλλά αντίθετα να επηρεάζονται από την ύπαρξη του νοσήματος. Οπότε, η αντίστροφη αιτιότητα (reverse causation) πρέπει να λαμβάνεται υπόψη σε αυτές τις μελέτες εφόσον οι επιγενετικοί δείκτες μπορούν να αλλάξουν με την πάροδο του χρόνου. Για να καθιερωθεί μια αιτιολογική συσχέτιση, είναι απαραίτητος ο καλός σχεδιασμός προοπτικών μελετών, ώστε να συλλέγουν προοπτικά πληροφορίες σχετικές με την έκθεση, να μετρούν σωστά τους

κατάλληλους δείκτες επιγενετικών αλλαγών στους ιστούς-στόχους, και παράλληλα να συλλέγουν πληροφορίες σχετικές με τις προκλινικές και τις κλινικές εκβάσεις των νοσημάτων ενδιαφέροντος. Αν και οι μελέτες που μελετήθηκαν είναι των τελευταίων ετών, δεν υπάρχουν ακόμη πολλά σαφή δεδομένα. Είναι σαφές ότι η μελέτη των επιγενετικών δεικτών, μελλοντικά μπορεί να προσφέρει πολύτιμες πληροφορίες σχετικές με τον τρόπο αξιολόγησης των περιβαλλοντικών εκθέσεων και δυνητικά να ελαχιστοποιήσει τις επιδράσεις των εκθέσεων αυτών στους ανθρώπους. Οι περισσότερες από τις επιγενετικές αλλαγές είναι αναστρέψιμες και για αυτό οι επιγενετικοί δείκτες μπορεί να είναι ιδανικοί για την ανάπτυξη νέων προληπτικών και θεραπευτικών επεμβάσεων. Είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν ουσίες (π.χ. η DNA μεθυλοτρανσφεράση), ώστε να παράγουν λειτουργικές συνέπειες (όπως υπο-μεθυλίωση του DNA), οι οποίες να χρησιμοποιηθούν στην τροποποίηση του επιπέδου μεταγραφής γονιδίων (π.χ. αύξηση της έκφρασης γονιδίων που καταστέλλουν όγκους) και δυνητικά να αλλάξουν την πορεία ανάπτυξης ενός νοσήματος (π.χ. του καρκίνου). Συμπερασματικά, η έρευνα του επιγονιδιώματος σε συνδυασμό με την περιβαλλοντική επιδημιολογία έχουν σημαντικές δυνατότητες όσον αφορά στον περιορισμό των δυσμενών επιδράσεων των περιβαλλοντικών εκθέσεων στην ανθρώπινη υγεία.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Abel T, Zukin RS (2008): Epigenetic targets of HDAC inhibition in neurodegenerative and psychiatric disorders. *Curr Opin Pharmacol* 8:57– 64
2. Achour, M., Le Gras, S., Keime, C., Parmentier, F., Lejeune, F. X., Boutillier, A. L., et al. (2015). Neuronal identity genes regulated by super-enhancers are preferentially down-regulated in the striatum of Huntington's disease mice. *Hum.Mol.Genet.*24,3481–3496.doi:10.1093/hmg/ddv099
3. Amir RE, Van den Veyver IB, Wan M, Tran CQ, Francke U, Zoghbi HY (1999): Rett syndrome is caused by mutations in X-linked MECP2, encoding methyl- CpG-binding protein 2. *Nat Genet* 23:185–188.
4. Anway, M.D., et al., 2005. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science* 308, 1466–1469.
5. Anway, M.D., et al., 2006. Endocrine disruptor vinclozolin induced epigenetic transgenerational adult-onset disease. *Endocrinology* 147, 5515–5523.
6. Aquilano K, Baldelli S, Rotilio G, Ciriolo MR. Role of nitric oxide synthases in Parkinson's disease: a review on the antioxidant and anti-inflammatory activity of polyphenols. *Neurochem Res.* 2008; 33 (12):2416–26. Epub 2008/04/17. doi: 10.1007/s11064-008-9697-6 PMID: 18415676

7. Aran D, Toperoff G, Rosenberg M, Hellman A. Replication timing-related and gene body-specific methylation of active human genes. *Hum Mol Genet.* 2011; 20(4):670–80. doi: 10.1093/hmg/ddq513 PMID: 21112978
8. Armentero MT, Pinna A, Ferre S, Lanciego JL, Muller CE, Franco R. Past, present and future of A(2A) adenosine receptor antagonists in the therapy of Parkinson's disease. *Pharmacol Ther.* 2011; 132 (3):280–99. Epub 2011/08/04. PubMed Central PMCID: PMC3205226. doi: 10.1016/j.pharmthera. 2011.07.004 PMID: 21810444
9. Arrasate, M., and Finkbeiner, S. (2012). Protein aggregates in Huntington's disease. *Exp. Neurol.* 238, 1–11. doi: 10.1016/j.expneurol.2011.12.013
10. Atadja PW. HDAC inhibitors and cancer therapy. *Prog Drug Res.* 2011; 67:175–95.
11. Bai G, Cheung I, Shulha HP, Coelho JE, Li P, Dong X, et al. Epigenetic dysregulation of hairy and enhancer of split 4 (HES4) is associated with striatal degeneration in postmortem *Huntin*
12. Bai, G., Cheung, I., Shulha, H. P., Coelho, J. E., Li, P., Dong, X., et al. (2015). Epigenetic dysregulation of hairy and enhancer of split 4 (HES4) is associated with striatal degeneration in postmortem Huntington brains. *Hum. Mol. Genet.* 24, 1441–1456. doi: 10.1093/hmg/ddu561
13. Berdasco M, Esteller M. Aberrant epigenetic landscape in cancer: how cellular identity goes awry. *Dev Cell.* 2010; 19:698–711.
14. Biagioli, M., Ferrari, F., Mendenhall, E. M., Zhang, Y., Erdin, S., Vijayvargia, R., et al. (2015). Htt CAG repeat expansion confers pleiotropic gains of mutant huntingtin function in chromatin regulation. *Hum. Mol. Genet.* 24, 2442–2457. doi: 10.1093/hmg/ddv006
15. Bird AP (1978): Use of restriction enzymes to study eukaryotic DNA methylation: II. The symmetry of methylated sites supports semi-conservative copying of the methylation pattern. *J Mol Biol* 118:49 – 60.
16. Bird AP (1986): CpG-rich islands and the function of DNA methylation. *Nature* 321:209 – 213.
17. Blatt, J., et al., 2003. Ovarian carcinoma in an adolescent with transgenerational exposure to diethylstilbestrol. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 25, 635–636.
18. Blough RI, Petrij F, Dauwerse JG, Milatovich-Cherry A, Weiss L, Saal HM, Rubinstein JH (2000): Variation in microdeletions of the cyclic AMP responsive element-binding protein gene at chromosome band 16p13.3 in the Rubinstein-Taybi syndrome. *Am J Med Genet* 90:29 –34.
19. Brami-Cherrier K, Valjent E, Hervé D, Darragh J, Corvol JC, Pages C, et al. (2005): Parsing molecular and behavioral effects of cocaine in mitogen- and stress-activated protein kinase-1-deficient mice. *J Neurosci* 25:11444 –11454.
20. Bromer, J.G., et al., 2009. Hypermethylation of homeobox A10 by in utero diethylstilbestrol exposure: an epigenetic mechanism for altered developmental programming. *Endocrinology* 150, 3376–3382.
21. Broom L, Marinova-Mutafchieva L, Sadeghian M, Davis JB, Medhurst AD, Dexter DT. Neuroprotection by the selective iNOS inhibitor GW274150 in a model of Parkinson disease. *Free Radic Biol Med.* 2011; 50(5):633–40. Epub 2010/12/28. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.026 PMID: 21185368
22. Buck SW, Gallo CM, Smith JS (2004): Diversity in the Sir2 family of protein deacetylases. *J Leukoc Biol* 75:939 –950.
23. Buggy JJ, Sideris ML, Mak P, Lorimer DD, McIntosh B, Clark JM (1999): Cloning and characterization of a novel human histone deacetylase, HDAC8. *Biochem J* 350:199 –205.

24. Cedar H, Solage A, Glaser G, Razin A (1979): Direct detection of methylated cytosine in DNA by use of the restriction enzyme MspI. *Nucleic Acids Res* 6: 2125–2132.
25. Chahrour M, Jung SY, Shaw C, Zhou X, Wong ST, Qin J, Zoghbi HY (2008): MeCP2, a key contributor to neurological disease, activates and represses transcription. *Science* 320:1224 –1229.
26. Chahrour, M., et al., 2008. MeCP2, a key contributor to neurological disease, activates and represses transcription. *Science* 320, 1224–1229
27. Chan GC, Fish JE, Mawji IA, Leung DD, Rachlis AC, Marsden PA. Epigenetic basis for the transcriptional hyporesponsiveness of the human inducible nitric oxide synthase gene in vascular endothelial cells. *J Immunol.* 2005; 175(6):3846–61. Epub 2005/09/09. PMID: 16148131
28. Chandramohan Y, Droste SK, Reul JM (2007): Novelty stress induces phospho-acetylation of histone H3 in rat dentate gyrus granule neurons through coincident signalling via the N-methyl-D-aspartate receptor and the glucocorticoid receptor: Relevance for c-fos induction. *J Neurochem* 101:815– 828.
29. Chen L, MacMillan AM, Chang W, Ezaz-Nikpay K, Lane WS, Verdine GL (1991): Direct identification of the active-site nucleophile in a DNA (cytosine-5)-methyltransferase. *Biochemistry* 30:11018 –11025.
30. Cheng, X., 1995a. DNA modification by methyltransferases. *Curr. Opin. Struct. Biol* 5, 4–10.
31. Cheng, X., 1995b. Structure and function of DNA methyltransferases. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 24, 293–318.
32. Chiba-Falek O, Lopez GJ, Nussbaum RL. Levels of alpha-synuclein mRNA in sporadic Parkinson disease patients. *Mov Disord.* 2006; 21(10):1703–8. Epub 2006/06/24. doi: 10.1002/mds.21007 PMID: 16795004
33. Chwang WB, Arthur JS, Schumacher A, Sweatt JD (2007): The nuclear kinase mitogen- and stress-activated protein kinase 1 regulates hippocampal chromatin remodeling in memory formation. *J Neurosci* 27: 12732–12742.
34. Chwang WB, O’Riordan KJ, Levenson JM, Sweatt JD (2006): ERK/MAPK regulates hippocampal histone phosphorylation following contextual fear conditioning. *Learn Mem* 13:322–328.
35. Cicchetti, F., Gould, P. V., and Parent, A. (1996). Sparing of striatal neurons coexpressing calretinin and substance P (NK1) receptor in Huntington’s disease. *Brain Res.* 730, 232–237. doi:10.1016/0006-8993(96)00307-1
36. Clarke R, Smith AD, Jobst KA, Refsum H, Sutton L, Ueland PM. Folate, vitamin B12, and serum total homocysteine levels in confirmed Alzheimer disease. *Arch Neurol.* 1998; 55(11):1449–55. Epub 1998/ 11/21. PMID: 9823829
37. Cohen S, Zhou Z, Greenberg ME (2008): Activating a repressor. *Science* 320:1172–1173.
38. Cooper DN, Krawczak M (1989): Cytosine methylation and the fate of CpG dinucleotides in vertebrate genomes. *Hum Genet* 83:181–188.
39. Cowley, J.J., Griesel, R.D., 1966. The effect on growth and behaviour of rehabilitating first and second generation low protein rats. *Anim. Behav.* 14, 506–517.
40. Cupp, A.S., et al., 2003. Effect of transient embryonic in vivo exposure to the endocrine disruptor methoxychlor on embryonic and postnatal testis development. *J. Androl.* 24, 736–745
41. D. Baralle, M. Baralle (2005) Splicing in action: assessing disease causing sequence changes. *J Med Genet* Vol. 42, pp. 737-748.

42. De Souza, R. A., Islam, S. A., McEwen, L. M., Mathelier, A., Hill, A., Mah, S. M., et al. (2016). DNA methylation profiling in human Huntington's disease brain. *Hum. Mol. Genet.* 25, 2013–2030. doi:10.1093/hmg/ddw076
43. Delaval, K., Feil, R., 2004. Epigenetic regulation of mammalian genomic imprinting. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 14, 188–195.
44. Dierker, L.C., et al., 1999. Influence of parental concordance for psychiatric disorders on psychopathology in offspring. *J. Am. Acad. Child Adolesc. Psychiatry* 38, 280–288.
45. DiFiglia, M., Sapp, E., Chase, K. O., Davies, S. W., Bates, G. P., Vonsattel, J. P., et al. (1997). Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science* 277, 1990–1993. doi: 10.1126/science.277. 5334.1990
46. Dong, X., Tsuji, J., Labad, A., Roussos, P., Chen, J. F., Myers, R. H., et al. (2015). The Role of H3K4me3 in transcriptional regulation is altered in Huntington's Disease. *PLoS ONE* 10:e0144398. doi:10.1371/journal.pone.0144398
47. Dunn, G. A., Bale, T. L., 2009. Maternal high-fat diet promotes body length increases and insulin insensitivity in second-generation mice. *Endocrinology* 150, 4999–5009.
48. Edgunlu TG, Ozge A, Yalin OO, Kul S, Erdal ME. A Study of the Impact of Death Receptor 4 (DR4) Gene Polymorphisms in Alzheimer's Disease. *Balkan Med J.* 2013; 30(3):268–72. Epub 2014/09/11. PubMed Central PMCID: PMC4115907. doi: 10.5152/balkanmedj.2013.7455 PMID: 25207117
49. Ellaway C, Christodoulou J (2001): Rett syndrome: Clinical characteristics and recent genetic advances. *Disabil Rehabil* 23:98 –106.
50. Ernst C, Deleval V, Deng X, Sequeira A, Pomarenski A, Klempan T, et al. Alternative splicing, methylation state, and expression profile of tropomyosin-related kinase B in the frontal cortex of suicide completers. *Arch Gen Psychiatry.* 2009; 66(1):22–32. Epub 2009/01/07. doi: 10.1001/archpsyc.66.1.22 PMID: 19124685
51. Fabbio Coppede, Michelangelo Mancuso, Gabrielle Siciliano, Lucia Migliore and Luigi Murri (2006) *Genes and the Environment in Neurodegeneration*. Biosci Rep, Vol.26, pp.341–367.
52. Fan, G., Hutnick, L., 2005. Methyl-CpG binding proteins in the nervous system. *Cell. Res.* 15, 255–261.
53. Feinberg AP. Phenotypic plasticity and the epigenetics of human disease. *Nature.* 2007;447:433–40.
54. Ferrante, R. J., Kowall, N. W., Beal, M. F., Martin, J. B., Bird, E. D., and Richardson, E. P. Jr. (1987b). Morphologic and histochemical characteristics of a spared subset of striatal neurons in Huntington's disease. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 46, 12–27. doi:10.1097/00005072-198701000-00002
55. Finnin MS, Donigian JR, Cohen A, Richon VM, Rifkind RA, Marks PA, et al. (1999): Structures of a histone deacetylase homologue bound to the TSA and SAHA inhibitors. *Nature* 401:188 –193.
56. Fischer A, Sananbenesi F, Wang X, Dobbin M, Tsai LH (2007): Recovery of learning and memory is associated with chromatin remodeling. *Nature* 447:178 –182.
57. Francis YI, Fa M, Ashraf H, Zhang H, Staniszewski A, Latchman DS, et al. Dysregulation of histone acetylation in the APP/PS1 mouse model of Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis.* 2009; 18(1):131– 9. Epub 2009/07/25. doi: 10.3233/JAD-2009-1134 PMID: 19625751
58. Gabel, S., Koncina, E., Dorban, G., Heurtaux, T., Birck, C., Glaab, E., et al. (2016). Inflammation Promotes a conversion of astrocytes into neural progenitor cells via NF- κ B activation. *Mol. Neurobiol.* 53, 5041–5055. doi:10.1007/s12035015-9428-3

59. Gandhi S, Wood NW. Genome-wide association studies: the key to unlocking neurodegeneration? *Nat Neurosci.* 2010;13:789–94.
60. Gardiner-Garden M, Frommer M (1987): CpG islands in vertebrate genomes. *J Mol Biol* 196:261–282.
61. Graff J, Kim D, Dobbin MM, Tsai LH. Epigenetic regulation of gene expression in physiological and pathological brain processes. *Physiol Rev.* 2011; 91(2):603–49. Epub 2011/04/30. doi: 10.1152/physrev.00012.2010 PMID: 21527733
62. Granic I, Dolga AM, Nijholt IM, van Dijk G, Eisel UL. Inflammation and NF-kappaB in Alzheimer's disease and diabetes. *J Alzheimers Dis.* 2009; 16(4):809–21. Epub 2009/04/24. doi: 10.3233/JAD-20090976 PMID: 19387114
63. Greenough WT, Wood WE, Madden TC (1972): Possible memory storage differences among mice reared in environments varying in complexity. *Behav Biol* 7:717–722.
64. Grundemann J, Schlaudraff F, Haeckel O, Liss B. Elevated alpha-synuclein mRNA levels in individual UV-laser-microdissected dopaminergic substantia nigra neurons in idiopathic Parkinson's disease. *Nucleic Acids Res.* 2008; 36(7):e38. Epub 2008/03/12. PubMed Central PMCID: PMC2367701. doi: 10.1093/nar/gkn084 PMID: 18332041
65. Grundemann J, Schlaudraff F, Liss B. UV-laser microdissection and mRNA expression analysis of individual neurons from postmortem Parkinson's disease brains. *Methods Mol Biol.* 2011; 755:363– 74. Epub 2011/07/16. doi: 10.1007/978-1-61779-163-5_30 PMID: 21761319
66. Guiretti, D., Sempere, A., Lopez-Atalaya, J. P., Ferrer-Montiel, A., Barco, A., and Valor, L.M. (2016). Specific promoter deacetylation of histone H3 is conserved across mouse models of Huntington's disease in the absence of bulk changes. *Neurobiol. Dis.* 89, 190–201. doi:10.1016/j.nbd.2016.02.004
67. Guy J, Gan J, Selfridge J, Cobb S, Bird A (2007): Reversal of neurological defects in a mouse model of Rett syndrome. *Science* 315:1143–1147.
68. Hockly, E., Richon, V. M., Woodman, B., Smith, D. L., Zhou, X., Rosa, E., et al. (2003). Suberoylanilide hydroxamic acid, a histone deacetylase inhibitor, ameliorates motor deficits in a mouse model of Huntington's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 2041–2046. doi:10.1073/pnas.0437870100
69. Holliday, R., Pugh, J.E., 1975. DNA modification mechanisms and gene activity during development. *Science* 187, 226–232.
70. Horvath, S., Langfelder, P., Kwak, S., Aaronson, J., Rosinski, J., Vogt, T. F., et al. (2016). Huntington's disease accelerates epigenetic aging of human brain and disrupts DNA methylation levels. *Aging (Albany NY)* 8, 1485–1512. doi: 10.18632/aging.101005
71. Ito H, Usuda N, Atsuzawa K, Iwamoto I, Sudo K, Katoh-Semba R, et al. Phosphorylation by extracellular signal-regulated kinase of a multidomain adaptor protein, vinexin, at synapses. *J Neurochem.* 2007; 100(2):545–54. Epub 2007/01/24. doi: 10.1111/j.1471-4159.2006.04222.x PMID: 17241162
72. Iversen, A.C., et al., 2007. Influence of childhood adversity on health among male UK military personnel. *Br. J. Psychiatry* 191, 506–511.
73. Januar V, Saffery R, Ryan J. Epigenetics and depressive disorders: a review of current progress and future directions. *Int J Epidemiol.* 2015. Epub 2015/02/27.
74. Jenuwein T, Allis CD. Translating the histone code. *Science.* 2001;293:1074–80.
75. John Hardy, Harry Orr The genetics of neurodegenerative diseases. *Journal of Neurochemistry*, Vol.26, No.97, pp.1690-1699.

76. Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat Rev Genet.* 2012; 13(7):484–92. doi: 10.1038/nrg3230 PMID: 22641018
77. Kaut O, Schmitt I, Wullner U. Genome-scale methylation analysis of Parkinson's disease patients' brains reveals DNA hypomethylation and increased mRNA expression of cytochrome P450 2E1. *Neurogenetics.* 2012; 13(1):87–91. Epub 2012/01/13. doi: 10.1007/s10048-011-0308-3 PMID: 22238121
78. Keller S, Sarchiapone M, Zarrilli F, Videtic A, Ferraro A, Carli V, et al. Increased BDNF promoter methylation in the Wernicke area of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry.* 2010; 67(3):258–67. Epub 2010/03/03. doi: 10.1001/archgenpsychiatry.2010.9 PMID: 20194826
79. Kim M, Long TI, Arakawa K, Wang R, Yu MC, Laird PW. DNA methylation as a biomarker for cardiovascular disease risk. *PLoS ONE.* 2010; 5(3):e9692. doi: 10.1371/journal.pone.0009692 PMID: 20300621
80. Kim SY, Levenson JM, Korsmeyer S, Sweatt JD, Schumacher A (2007): Developmental regulation of Eed complex composition governs a switch in global histone modification in brain. *J Biol Chem* 282:9962– 9972.
81. Kim, M. O., Chawla, P., Overland, R. P., Xia, E., Sadri-Vakili, G., and Cha, J. H. (2008). Altered histone monoubiquitylation mediated by mutant huntingtin induce transcriptional dysregulation. *J. Neurosci.* 28, 3947–3957. doi:10.1523/JNEUROSCI.5667-07.2008
82. Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet.* 2010;11:597–610.
83. Kurdistani SK. Histone modifications in cancer biology and prognosis. *Prog Drug Res.* 2011;67:91–106.
84. Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001;409:860–921.
85. Landles, C., and Bates, G. P. (2004). Huntingtin and the molecular pathogenesis of Huntington's disease. Fourth in molecular medicine review series. *EMBO Rep.* 5, 958–963. doi:10.1038/sj.embor.7400250
86. Lars Bertram and Rudolph E. Tanzi (2005) The genetic epidemiology of neurodegenerative disease. *The journal of clinical investigation*, Vol.115, No.6, pp.1449- 1457
87. Lau OD, Courtney AD, Vassilev A, Marzilli LA, Cotter RJ, Nakatani Y, Cole PA (2000): p300/CBP-associated factor histone acetyltransferase processing of a peptide substrate. Kinetic analysis of the catalytic mechanism. *J Biol Chem* 275:21953–21959.
88. Lubin FD, Sweatt JD (2007): The IB kinase regulates chromatin structure during reconsolidation of conditioned fear memories. *Neuron* 55: 942–957.
89. Luchsinger JA, Tang MX, Miller J, Green R, Mayeux R. Relation of higher folate intake to lower risk of Alzheimer disease in the elderly. *Arch Neurol.* 2007; 64(1):86–92. Epub 2007/01/11. doi: 10.1001/archneur.64.1.86 PMID: 17210813
90. Luger K, Mader AW, Richmond RK, Sargent DF, Richmond TJ (1997): Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 389:251–260.
91. Luttmer R, Spijkerman AM, Kok RM, Jakobs C, Blom HJ, Serne EH, et al. Metabolic syndrome components are associated with DNA hypomethylation. *Obes Res Clin Pract.* 2013; 7(2):e106–e115. doi: 10.1016/j.orcp.2012.06.001 PMID: 24331772
92. Mager, J., Bartolomei, M.S., 2005. Strategies for dissecting epigenetic mechanisms in the mouse. *Nat. Genet.* 37, 1194–1200

93. Manassis, K., et al., 1995. Behavioural inhibition, attachment and anxiety in children of mothers with anxiety disorders. *Can. J. Psychiatry* 40, 87–92
94. Mark A. Smith, George Perry, Xiongwei Zhu and Abdelali Haoudi (2006) Neurodegenerative diseases: Mechanisms and therapies. *Journal of biomedicine and Biotechnology*, Vol.2006, pp. 1-150.
95. Matsuyama M, Mizusaki H, Shimono A, Mukai T, Okumura K, Abe K, et al. A novel isoform of Vinexin, Vinexin gamma, regulates Sox9 gene expression through activation of MAPK cascade in mouse fetal gonad. *Genes Cells*. 2005; 10(5):421–34. Epub 2005/04/20. doi: 10.1111/j.1365-2443.2005.00844.x PMID: 15836771
96. Mattick JS, Amaral PP, Dinger ME, et al. RNA regulation of epigenetic processes. *Bioessays*. 2009;31:51–9.
97. Mattick JS, Taft RJ, Faulkner GJ. A global view of genomic information—moving beyond the gene and the master regulator. *Trends Genet*. 2010;26:21–8.
98. Matzke, M.A., Birchler, J.A., 2005. RNAi-mediated pathways in the nucleus. *Nat. Rev. Genet*. 6, 24–35.
99. McFarland, K.N., Das, S., Sun, T.T., Leyfer, D., Xia, E., Sangrey, G.R., et al. (2012). Genome-wide histone acetylation is altered in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *PLoS ONE* 7:e41423. doi:10.1371/journal.pone.0041423
100. McGowan, P.O., et al., 2008. Promoter-wide hypermethylation of the ribosomal RNA gene promoter in the suicide brain. *PLoS ONE* 3, e2085.
101. Meda F, Folci M, Baccarelli A, Selmi C. The epigenetics of autoimmunity. *Cell Mol Immunol*. 2011
102. Mehler MF. Epigenetic principles and mechanisms underlying nervous system functions in health and disease. *Prog Neurobiol*. 2008;86:305–41.
103. Mehler MF. Epigenetic principles and mechanisms underlying nervous system functions in health and disease. *Prog Neurobiol*. 2008;86:305–41.
104. Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. *Nat Rev Genet*. 2009;10:155–9.
105. Merikangas, K.R., et al., 1998. Psychopathology and temperament in parents and offspring: results of a family study. *J. Affect. Disord*. 51, 63–74.
106. Michael Slifer and Jeffery M. Vance (2008) Familial Neurodegenerative Diseases and Single Nucleotide Polymorphism (pp. 463-478). In Howard E. Gendelman and Tsuneya Ikezu *Neuroimmune Pharmacology*, Miami: Springer US.
107. Mill, J., et al., 2008. Epigenomic profiling reveals DNA-methylation changes associated with major psychosis. *Am. J. Hum. Genet*. 82, 696–711.
108. Milona j., Iloghetti j., (1996, Τρίτη Έκδοση) ΝΕΥΡΟΛΟΓΙΑ. Θεσσαλονίκη, University Studio Press. 2. Γεωργόπουλος Γ. Πάνος, (2006) Περιβάλλον, Γονιδίωμα, Ανθρώπινη συμπεριφορά και Υγεία: μια συστηματική βιοπληροφορική προσέγγιση. Robert Wood Johnson Medical School and Rutgers University, USA.
109. Monti B, Gatta V, Piretti F, Raffaelli SS, Virgili M, Contestabile A. Valproic Acid is Neuroprotective in the Rotenone Rat Model of Parkinson's Disease: Involvement of alpha-Synuclein. *Neurotoxicity Research*. 2010; 17(2):130–41. doi: 10.1007/s12640-009-9090-5 PMID: 19626387
110. Muka T, Koromani F, Portilla E, O'Connor A, Bramer WM, Troup J, et al. The role of epigenetic modifications in cardiovascular disease: A systematic review. *Int J Cardiol*. 2016; 212:174–83. Epub 2016/ 04/04. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.03.062 PMID: 27038728

111. Muka T, Nano J, Voortman T, Braun KV, Ligthart S, Stranges S, et al. The role of global and regional DNA methylation and histone modifications in glycemic traits and type 2 diabetes: A systematic review. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2016; 26(7):553–66. Epub 2016/05/06. doi: 10.1016/j.numecd.2016.04.002 PMID: 27146363
112. Nagahara AH, Merrill DA, Coppola G, Tsukada S, Schroeder BE, Shaked GM, et al. Neuroprotective effects of brain-derived neurotrophic factor in rodent and primate models of Alzheimer's disease. *Nat Med.* 2009; 15(3):331–7. Epub 2009/02/10. PubMed Central PMCID: PMC2838375. doi: 10.1038/nm.1912 PMID: 19198615
113. Nelson HH, Marsit CJ, Kelsey KT. Global methylation in exposure biology and translational medical science. *Environ Health Perspect.* 2011; 119(11):1528–33. Epub 2011/06/15. PubMed Central PMCID: PMC3226501. doi: 10.1289/ehp.1103423 PMID: 21669556
114. Ng, C. W., Yildirim, F., Yap, Y. S., Dalin, S., Matthews, B. J., Velez, P. J., et al. (2013). Extensive changes in DNA methylation are associated with expression of mutant huntingtin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, 2354–2359. doi: 10.1073/pnas.1221292110
115. Nilsson, E.E., et al., 2008. Transgenerational epigenetic effects of the endocrine disruptor vinclozolin on pregnancies and female adult onset disease. *Reproduction* 135, 713–721.
116. Okano M, Xie S, Li E (1998): Cloning and characterization of a family of novel mammalian DNA (cytosine-5) methyltransferases. *Nat Genet* 19: 219 –220.
117. Oliveira AM, Wood MA, McDonough CB, Abel T (2007): Transgenic mice expressing an inhibitory truncated form of p300 exhibit long-term memory deficits. *Learn Mem* 14:564 –572.
118. Palmer, J.R., et al., 2006. Prenatal diethylstilbestrol exposure and risk of breast cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 15, 1509–1514.
119. Pan W, Banks WA, Fasold MB, Bluth J, Kastin AJ. Transport of brain-derived neurotrophic factor across the blood-brain barrier. *Neuropharmacology.* 1998; 37(12):1553–61. Epub 1999/01/14. PMID: 9886678
120. Peleg S, Sananbenesi F, Zovoilis A, Burkhardt S, Bahari-Javan S, Agis-Balboa RC, et al. Altered Histone Acetylation Is Associated with Age-Dependent Memory Impairment in Mice. *Science.* 2010; 328 (5979):753–6. doi: 10.1126/science.1186088 PMID: 20448184
121. Pembrey, M.E., et al., 2006. Sex-specific, male-line transgenerational responses in humans. *Eur. J. Hum. Genet.* 14, 159–166.
122. Petrij F, Giles RH, Dauwerse HG, Saris JJ, Hennekam RC, Masuno M, et al. (1995): Rubinstein-Taybi syndrome caused by mutations in the transcriptional co-activator CBP. *Nature* 376:348 –351.
123. Popat RA, Van Den Eeden SK, Tanner CM, Kamel F, Umbach DM, Marder K, et al. Coffee, ADORA2A, and CYP1A2: the caffeine connection in Parkinson's disease. *Eur J Neurol.* 2011; 18 (5):756–65. Epub 2011/02/02. PubMed Central PMCID: PMC3556904. doi: 10.1111/j.1468-1331.2011.03353.x PMID: 21281405
124. Qureshi IA, Mattick JS, Mehler MF. Long non-coding RNAs in nervous system function and disease. *Brain Res.* 2010;1338:20– 35.
125. Qureshi IA, Mehler MF. Impact of nuclear organization and dynamics on epigenetic regulation in the central nervous system: implications for neurological disease states. *Ann NY Acad Sci.* 2010;1204(Suppl):E20–37.
126. Ribel-Madsen R, Fraga MF, Jacobsen S, Bork-Jensen J, Lara E, Calvanese V, et al. Genome-Wide Analysis of DNA Methylation Differences in Muscle and Fat from Monozygotic Twins Discordant for Type 2 Diabetes. *PLoS ONE.* 2012; 7(12).

127. Richards, E.J., 2006. Inherited epigenetic variation—revisiting soft inheritance. *Nat. Rev. Genet.* 7, 395–401.
128. Riedl AG, Watts PM, Jenner P, Marsden CD. P450 enzymes and Parkinson's disease: the story so far. *Mov Disord.* 1998; 13(2):212–20. Epub 1998/04/16. doi: 10.1002/mds.870130204 PMID: 9539332
129. Roos, R. A. (2010). Huntington's disease: a clinical review. *Orphanet J. Rare Dis.* 5:40.doi:10.1186/1750-1172-5-40
130. Rosas,H.D.,Salat,D.H.,Lee,S.Y.,Zaleta,A.K.,Pappu,V.,Fischl,B.,etal.(2008). CerebralcortexandtheclinicalexpressionofHuntington'sdisease:complexity andheterogeneity.*Brain*131,1057–1068.doi:10.1093/brain/awn025
131. Roth, T.L., et al., 2009. Lasting epigenetic influence of early-life adversity on the BDNF gene. *Biol. Psychiatry*
132. Rubinstein JH, Taybi H (1963): Broad thumbs and toes and facial abnormalities. A possible mental retardation syndrome. *Am J Dis Child* 105: 588 – 608.
133. Ruthenburg AJ, Li H, Patel DJ, Allis CD. Multivalent engagement of chromatin modifications by linked binding modules. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007;8:983–94.
134. Ryu, H., Lee, J., Hagerty, S. W., Soh, B. Y., McAlpin, S. E., Cormier, K. A., et al. (2006). ESET/SETDB1 gene expression and histone H3 (K9) trimethylation in Huntington's disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 19176–19181. doi: 10.1073/pnas.0606373103
135. Sadri-Vakili, G., Bouzou, B., Benn, C. L., Kim, M. O., Chawla, P., Overland, R. P., et al. (2007). Histones associated with downregulated genes are hypoacetylated in Huntington's disease models. *Hum. Mol. Genet.* 16, 1293–1306. doi:10.1093/hmg/ddm078
136. Santi DV, Garrett CE, Barr PJ (1983): On the mechanism of inhibition of DNA-cytosine methyltransferases by cytosine analogs. *Cell* 33:9 –10.
137. Scarano, E., 1971. The control of gene function in cell differentiation and in embryogenesis. *Adv. Cytopharmacol.* 1, 13–24.
138. Schmitt M, Matthies H. Biochemical-Studies on Histones of the Central Nervous-System .3. Incorporation of [Acetate-C-14 into the Histones of Different Rat-Brain Regions during a Learning-Experiment. *Acta Biol Med Ger.* 1979; 38(4):683–9. PMID: 525146
139. Seong,I.S.,Woda,J.M.,Song,J.J.,Lloret,A.,Abeyrathne,P.D.,Woo,C.J.,etal. (2010).Huntingtinfacilitatespolycombrepresivecomplex2.*Hum.Mol.Genet.* 19,573–583.doi:10.1093/hmg/ddp524
140. Serge Przedborski, Miquel Vila and Vernice Jackson-Lewis (2003) Neurodegeneration: What is it and where are we? *J. Clin. Invest.* Vol.111, No.1, pp.3-10.
141. Shamir-Essakow, G., et al., 2005. Attachment, behavioral inhibition, and anxiety in preschool children. *J. Abnorm. Child Psychol.* 33, 131–143.
142. Sharma P, Kumar J, Garg G, Kumar A, Patowary A, Karthikeyan G, et al. Detection of altered global DNA methylation in coronary artery disease patients. *DNA Cell Biol.* 2008; 27(7):357–65. doi: 10. 1089/dna.2007.0694 PMID: 18613790
143. Sharma S, Kelly TK, Jones PA. Epigenetics in cancer. *Carcinogenesis.* 2010; 31(1):27–36. Epub 2009/09/16. PubMed Central PMCID: PMC2802667. doi: 10.1093/carcin/bgp220 PMID: 19752007

144. Shulman JM, De Jager PL, Feany MB. Parkinson's disease: genetics and pathogenesis. *Annu Rev Pathol.* 2011; 6:193–222. Epub 2010/11/03. doi: 10.1146/annurev-pathol-011110-130242 PMID: 21034221
145. Sirianni N, Naidu S, Pereira J, Pillotto RF, Hoffman EP (1998): Rett syndrome: Confirmation of X-linked dominant inheritance, and localization of the gene to Xq28. *Am J Hum Genet* 63:1552–1558.
146. Song C, Kanthasamy A, Anantharam V, Sun F, Kanthasamy AG. Environmental neurotoxic pesticide increases histone acetylation to promote apoptosis in dopaminergic neuronal cells: relevance to epigenetic mechanisms of neurodegeneration. *Mol Pharmacol.* 2010; 77(4):621–32. Epub 2010/01/26. PubMed Central PMCID: PMC2847769. doi: 10.1124/mol.109.062174 PMID: 20097775
147. Steffan, J. S., Bodai, L., Pallos, J., Poelman, M., McCampbell, A., Apostol, B. L., et al. (2001). Histone deacetylase inhibitors arrest polyglutamine-dependent neurodegeneration in *Drosophila*. *Nature* 413, 739–743. doi: 10.1038/35099568
148. Steffan, J. S., Kazantsev, A., Spasic-Boskovic, O., Greenwald, M., Zhu, Y. Z., Gohler, H., et al. (2000). The Huntington's disease protein interacts with p53 and CREB-binding protein and represses transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 97, 6763–6768. doi: 10.1073/pnas.100110097
149. Strahl BD, Allis CD (2000): The language of covalent histone modifications. *Nature* 403:41–45.
150. Sung YM, Lee T, Yoon H, DiBattista AM, Song JM, Sohn Y, et al. Mercaptoacetamide-based class II HDAC inhibitor lowers A beta levels and improves learning and memory in a mouse model of Alzheimer's disease. *Experimental Neurology.* 2013; 239:192–201. doi: 10.1016/j.expneurol.2012.10.005 PMID: 23063601
151. Susser, M., Stein, Z., 1994. Timing in prenatal nutrition: a reprise of the Dutch Famine Study. *Nutr. Rev.* 52, 84–94.
152. Swank MW, Sweatt JD (2001): Increased histone acetyltransferase and lysine acetyltransferase activity and biphasic activation of the ERK/RSK cascade in insular cortex during novel taste learning. *J Neurosci* 21: 3383–3391.
153. Taberlay PC, Jones PA. DNA methylation and cancer. *Prog Drug Res.* 2011; 67:1–23.
154. Tanner KG, Langer MR, Denu JM (2000): Kinetic mechanism of human histone acetyltransferase P/CAF. *Biochemistry* 39:11961–11969.
155. Tanner KG, Langer MR, Kim Y, Denu JM (2000): Kinetic mechanism of the histone acetyltransferase GCN5 from yeast. *J Biol Chem* 275:22048 – 22055.
156. Tanner KG, Trievel RC, Kuo MH, Howard RM, Berger SL, Allis CD, et al. (1999): Catalytic mechanism and function of invariant glutamic acid 173 from the histone acetyltransferase GCN5 transcriptional coactivator. *J Biol Chem* 274:18157–18160.
157. Teich AF, Nicholls RE, Puzzo D, Fiorito J, Purgatorio R, Fa M, et al. Synaptic therapy in Alzheimer's disease: a CREB-centric approach. *Neurotherapeutics.* 2015; 12(1):29–41. Epub 2015/01/13. PubMed Central PMCID: PMC4322064. doi: 10.1007/s13311-014-0327-5 PMID: 25575647
158. Terry MB, Delgado-Cruzata L, Vin-Raviv N, Wu HC, Santella RM. DNA methylation in white blood cells: association with risk factors in epidemiologic studies. *Epigenetics.* 2011; 6(7):828–37. Epub 2011/06/04. PubMed Central PMCID: PMC3154425. doi: 10.4161/epi.6.7.16500 PMID: 21636973

159. Titus-Ernstoff, L., et al., 2008. Offspring of women exposed in utero to diethylstilbestrol (DES): a preliminary report of benign and malignant pathology in the third generation. *Epidemiology* 19, 251–257.
160. Uzumcu, M., et al., 2004. Effect of the anti-androgenic endocrine disruptor vinclozolin on embryonic testis cord formation and postnatal testis development and function. *Reprod. Toxicol.* 18, 765–774
161. V. A. Sukhanov, I. D. Ionov, and L. A. Piruzyan (2004) Neurodegenerative Disorders: The Role of Genetic Factors in Their Origin and the Efficiency of Treatment. *Human Physiology*, Vol. 31, No. 4, 2005, pp. 472–482.
162. Valor, L. M. (2015b). Transcription, epigenetics and ameliorative strategies in Huntington's Disease: a genome-wide perspective. *Mol. Neurobiol.* 51, 406–423. doi:10.1007/s12035-014-8715-8
163. Vashishtha, M., Ng, C. W., Yildirim, F., Gipson, T. A., Kratter, I. H., Bodai, L., et al. (2013). Targeting H3K4 trimethylation in Huntington disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 110, E3027–E3036. doi: 10.1073/pnas.13113 23110
164. Viaggi C, Vaglini F, Pardini C, Caramelli A, Corsini GU. MPTP-induced model of Parkinson's disease in cytochrome P450 2E1 knockout mice. *Neuropharmacology*. 2009; 56(8):1075–81. Epub 2009/03/ 21. doi: 10.1016/j.neuropharm.2009.03.003 PMID: 19298832
165. Waddington CH (1957): *The Strategy of the Genes*. New York: MacMillan.
166. Waddington, C.H., 1942. The epigenotype. *Endeavour* 1, 18–20
167. Wassenegger, M., 2005. The role of the RNAi machinery in heterochromatin formation. *Cell* 122, 13–16.
168. Waterland, R.A., et al., 2006. Maternal methyl supplements increase offspring DNA methylation at Axin Fused. *Genesis* 44, 401–406.
169. Weaver, I.C., et al., 2005. Reversal of maternal programming of stress responses in adult offspring through methyl supplementation: altering epigenetic marking later in life. *J. Neurosci.* 25, 11045–11054.
170. Wei L, Liu S, Su Z, Cheng R, Bai X, Li X. LINE-1 hypomethylation is associated with the risk of coronary heart disease in Chinese population. *Arq Bras Cardiol.* 2014; 102(5):481–7. doi: 10.5935/abc.20140054 PMID: 24918913
171. Weissman, M.M., et al., 1984. Depression and anxiety disorders in parents and children. Results from the Yale family study. *Arch. Gen. Psychiatry* 41, 845–852.
172. Wilson, V.L., Jones, P.A., 1983. DNA methylation decreases in aging but not in immortal cells. *Science* 220, 1055–1057.
173. Wu SC, Zhang Y. Active DNA demethylation: many roads lead to Rome. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010;11:607–20.
174. Yeh SH, Lin CH, Gean PW (2004): Acetylation of nuclear factor-B in rat amygdala improves long-term but not short-term retention of fear memory. *Mol Pharmacol* 65:1286 –1292.
175. Zamenhof, S., et al., 1971. DNA (cell number) in neonatal brain: second generation (F2) alteration by maternal (F0) dietary protein restriction. *Science* 172, 850–851.
176. Zuccato C, Cattaneo E. Brain-derived neurotrophic factor in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurol.* 2009; 5(6):311–22. Epub 2009/06/06. doi: 10.1038/nrneurol.2009.54 PMID: 19498435